

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Tereza Furmánková

Úloha odpráhuujících proteinů (UCP) v kardioprotekci
The role of uncoupling proteins (UCP) in cardioprotection

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Daniela Horníková, Ph.D.

Konzultant: doc. RNDr. Jitka Žurmanová, Ph.D.

Praha, 2020

Poděkování:

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování RNDr. Daniele Horníkové, Ph.D. za její cenné rady, trpělivost, empatii a čas, který mi věnovala v průběhu zpracování bakalářské práce a doc. RNDr. Jitce Žurmanové, Ph.D. za konzultace práce. Dále chci poděkovat také mé rodině a přátelům, kteří mi byli nesmírnou oporou v průběhu mého studia.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 7.6. 2020

Tereza Furmánková

Abstrakt

Kardiovaskulární onemocnění (cardiovascular disease, CVD) je celosvětově na první příčce, jako příčina úmrtí. Ročně na CVD umře necelých 18 milionů lidí a prevalence nadále vzrůstá jak u mužů, tak žen. V současné době je zřejmé, že udržení mitochondriálního membránového potenciálu může hrát významnou úlohu v patofyziologii srdce a podílí se na kardioprotektivních mechanismech. Mitochondriální membránový potenciál lze ovlivňovat různými způsoby, jeden z nich je stimulace odpřahujících nebo-li „uncoupling” proteinů. Shrnutí dosavadních poznatků v této práci poukázalo na to, že odpřahující proteiny mají vliv na redukci kyslíkatých radikálů, inhibici apoptózy, ovlivňují tvorbu ATP a aterosklerotických plátů a chrání srdce před toxicitou lipidů. K regulaci jejich genové exprese dochází několika způsoby a ovlivnění těchto cest může být jeden z dalších způsobů, jak docílit kardioprotekce.

Klíčová slova: odpřahující proteiny, mitochondrie, kardioprotekce, tyroidní hormony, mastné kyseliny, tuková tkáň, reaktivní formy kyslíku, FGF21

Abstract

Cardiovascular disease (CVD) is the world's leading cause of death. Almost 18 million people die of CVD each year, and the prevalence continues to rise for both men and women. It is now clear that the maintenance of mitochondrial membrane potential can play an important role in the pathophysiology of the heart and it is involved in cardioprotective mechanisms. Mitochondrial membrane potential can be affected in a various of ways, one of them is the stimulation of uncoupling proteins. An elaboration of previous findings in this work has shown that uncoupling proteins have the effect of reducing oxygen radicals, inhibiting apoptosis, affect the production of ATP and atherosclerotic plaques and protect the heart from lipid toxicity. There are several ways to regulate their gene expression, and influencing these pathways may be a way to achieve cardioprotection.

Key words: uncoupling proteins, mitochondria, cardioprtoection, thyroid hormones, fatty acids, adipose tissue, reactive oxygen species, FGF21

Seznam použitých zkratk

AC	adenylcykláza (<i>adenyl cyclase</i>)
AKT	proteinkináza B (<i>protein kinase B</i>)
Akt1	izoforma proteinkinázy B (<i>protein kinase B isoform</i>)
ANP	atriální natriuretický peptid (<i>atrial natriuretic peptid</i>)
ANT	přenašeč adeninových nukleotidů (<i>adenin nucleotide translocator</i>)
Apaf1	apoptotický proteázy aktivující faktor-1 (<i>apoptotic protease activating factor-1</i>)
ATP	adenosintrifosfát (<i>adenosine triphosphate</i>)
Bad	antagonista buněčné smrti Bcl-2 (<i>Bcl-2 antagonist of cell death</i>)
Bak	antagonista Bcl-2 (<i>Bcl-2 antagonist</i>)
β-AR	beta adrenergní receptory (<i>beta adrenergic receptor</i>)
BAT	hnědá tuková tkáň (<i>brown adipose tissue</i>)
Bax	protein X asociovaný s Bcl-2 (<i>Bcl-2 associated X protein</i>)
Bcl-2	lymfom B-buněk (<i>B-cell lymphoma 2</i>)
Bcl-xL	antiapoptotický protein (<i>B-cell lymphoma 2 extra large</i>)
Bid	proapoptotický protein (<i>BH3 interacting-domain death agonist</i>)
Bim	proapoptotický protein (<i>Bcl-2-like protein 11</i>)
CAMKII	Ca ²⁺ /kalmodulin dependentní proteinkináza II (<i>Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II</i>)
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát (<i>cyclic adenosine monophosphate</i>)
CARD	kaspáza náborové domény (<i>caspase activation and recruitment domain</i>)
Cas-3	kaspáza-3 (<i>caspase-3</i>)
CD11b	integrin 11b (<i>cluster of differentiation 11b</i>)
CPT1	karnitinpalmitoyltransferáza 1 (<i>catnitine palmitoyltransferase 1</i>)
cTnI	plazmatický srdeční troponin I (<i>cardiac troponin I</i>)
CVD	kardiovaskulární onemocnění (<i>cardiovascular disease</i>)
D1/D2/D3	dejodáza I. /II. /III. typu (<i>deiodinase type I/II/III</i>)
DD	death doména (<i>death domain</i>)
EFT	epikardiální tuková tkáň (<i>epicardial fat tissue</i>)
Epi	epinefrin (<i>ephinefrin</i>)
ER	endoplazmatické retikulum (<i>endoplasmatic reticulum</i>)
ERK	kinázy regulované extracelulárním signálem (<i>extracellular signal-regulated kinase</i>)
FADH2	flavinadenindinukleotid (<i>flavin adenine dinucleotide</i>)
FFA	volné mastné kyseliny (<i>free fatty acid</i>)

FGF21	fibroblastový růstový faktor 21 (<i>fibroblast growth factor 21</i>)
FGFR	receptor fibroblast růstového faktoru (<i>fibroblast growth factor receptors</i>)
Gi	inhibiční G protein (<i>G inhibitor</i>)
GLUT4	glukózový transportér typu 4 (<i>glucose transporter type 4</i>)
Gs	stimulační G protein (<i>G stimulator</i>)
HF	srdeční selhání (<i>heart failure</i>)
HFD	dieta s vysokým obsahem tuku (<i>high fat diet</i>)
I/R	ischemicko-reperfúzní (<i>ischemic-reperfusion</i>)
IMM	vnitřní mitochondriální membrána (<i>inner mitochondrial membrane</i>)
Iso	isoproterenol (<i>isoproterenol</i>)
LDL	nízkodenzní lipoprotein (<i>low density lipoprotein</i>)
LV	levá komora (<i>left ventricle</i>)
MAPC	mitochondriální anionový přenašeč (<i>mitochondrial anion protein carrier</i>)
MK	mastné kyseliny (<i>fatty acids</i>)
MM	mitochondriální membrána (<i>mitochondrial membrane</i>)
MPTP	mitochondriální pór přechodné permeability (<i>mitochondrial permeability transition pore</i>)
NADH	nikotinamidadenin dinukleotid (<i>nicotinamide adenine dinucleotide</i>)
NA	noradrenalin (<i>noradrenaline</i>)
NF-κB	jaderný faktor kappa B (<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>)
OMM	vnější mitochondriální membrána (<i>outer mitochondrial membrane</i>)
PAK	proteinkináza A (<i>protein kinase A</i>)
PCr	fosfokreatin (<i>phosphocreatine</i>)
PGC-1	PPAR koaktivátor-1 (<i>peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1</i>)
PGC-1α	PPAR koaktivátor-1 alfa (<i>peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1alpha</i>)
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza (<i>phosphoinositide 3-kinase</i>)
PPAR	receptory aktivovány peroxizomovými proliferátory (<i>peroxisome proliferator-activated receptor</i>)
PPRE	responzivní elementy peroxizomových proliferátorů (<i>peroxisome proliferator response elements</i>)
ROS	volné kyslíkové radikály (<i>reactive oxygen species</i>)
SIRT1	sirtuin 1, NAD-dependentní deacetyláza (<i>NAD-dependent deacetylase</i>)
SOD2	superoxid dismutáza 2 (<i>superoxid dismutase 2</i>)
T3	trijodtyronin (<i>triiodothyronine</i>)
T4	tyroxin (<i>thyroxine</i>)

TH	tyroidní hormony (<i>thyroid hormones</i>)
TIM	translokáza vnitřní mitochondriální membrány (<i>translocase of the inner membrane</i>)
TNF-α	tumor nekrotizující faktor alfa (<i>tumor necrosis factor alfa</i>)
TOM	translokáza vnější mitochondriální membrány (<i>translocase of the outer membrane</i>)
TRα	tyroidní receptor alfa (<i>thyroid receptor alpha</i>)
TRβ	tyroidní receptor beta (<i>thyroid receptor beta</i>)
TRH	tyrotropin uvolňující hormon (<i>thyrotropin releasing hormone</i>)
TSH	tyrotropin, tyroidální stimulující hormon (<i>thyroid-stimulating hormone</i>)
UCP	odpřahující proteiny (<i>uncoupling proteins</i>)
UCP12/3/4/5	odpřahující protein 1 (<i>uncoupling protein 1,2,3,4,5</i>)
WAT	bílá tuková tkáň (<i>white adipose tissue</i>)

Obsah

1 Úvod a cíle	1
2. Mitochondrie	2
2.1 Stavba a funkce mitochondrií	2
2.1.1 Bioenergetika mitochondrií	2
2.1.2 Oxidativní fosforylace	3
2.1.3 Odpřažení oxidativní fosforylace	4
2.2 Reaktivní formy kyslíku	4
2.3 Apoptóza	5
3 Odpřahující proteiny (UCP)	6
3.1 Odpřahující protein 1 (UCP1)	7
3.2 Odpřahující protein 2 (UCP2)	8
3.3 Odpřahující protein 3 (UCP3)	8
3.4 Odpřahující protein 4 (UCP4) a 5 (UCP5)	8
4. Tyroidní systém	9
4.1 Tyroidní systém a srdce	10
4.1.1 Tyroidní hormony a adrenergní stimulace	11
4.2 Tyroidní hormony a odpřahující proteiny	12
5. Odpřahující proteiny a mastné kyseliny	13
5.1 Kardioprotektivní účinky UCP a mastné kyseliny	14
5.2 Odpřahující proteiny a receptory aktivované proliferátory peroxizomů (PPAR)	15
6. Odpřahující proteiny a tuková tkáň	16
6.1 Kardioprotektivní účinky UCP a tukové tkáně	17
6.2 Fibroblastový růstový faktor 21 (FGF21)	18
6.2.1. Kardioprotektivní účinky UCP a FGF21	18
7. UCP a kardiovaskulární onemocnění	21
7.1 Srdeční selhání	21
7.2 Ateroskleróza	23
9. Závěr	25
10. Použitá literatura	26

1 Úvod a cíle

Prevalence kardiovaskulárního onemocnění (CVD) na základě údajů NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) z let 2013-2016 u dospělých lidí starších 20 let je 48 %, což činí 121,5 milionu lidí v roce 2016 a postupně s věkem vzrůstá u mužů, tak žen. V případě, že nezahrneme hypertenzi, ale pouze ischemickou chorobu srdeční, srdeční selhání a mrtvici, činí celkový počet lidí trpící tímto onemocněním 9 % (24,3 milionu v roce 2016). Za rok 2019 bylo 17,6 milionu úmrtí způsobeno CVD, oproti roku 2006 to činí nárůst o 14,5 % (Benjamin et al., 2019). V současné době je zřejmé, že udržení mitochondriálního membránového potenciálu může hrát významnou úlohu v patofyziologii srdce a podílí se na kardioprotektivních mechanismech. Mitochondriální membránový potenciál lze ovlivnit různými způsoby, jeden z nich je stimulace odpřahujících neboli „uncoupling“ proteinů.

Odpřahující proteiny (UCP) řadíme do tzv. superrodiny metabolických přenašečů, které se nachází na vnitřní mitochondriální membráně. Jejich působením dochází k regulaci membránového potenciálu generovaného dýchacím řetězcem. Prvním objeveným odpřahujícím proteinem byl termogenin (UCP1), který zprostředkovává netřesovou termogenezi v hnědé tukové tkáni. Další izoformy odpřahujících proteinů, které jsou tkáňově specificky distribuovány a jejich funkce není doposud zcela známá, byly objeveny v druhé polovině 90. let 20. století a jsou pojmenovány podle pořadí, ve kterém byly objeveny (UCP 2-5). Role v kardioprotekci je zkoumána a pozorována v případě prvních tří homologů.

Cílem této bakalářské práce je shrnout poznatky týkající se odpřahujících proteinů v kardioprotekci.

2. Mitochondrie

2.1 Stavba a funkce mitochondrií

Mitochondrie jsou semiautonorní buněčné organely, které vznikly před 2,5-1,8 mld let pochlucením bakterií (teorie endosymbiózy) a jsou studovány od konce 19. století. Mimo účasti v signálních kaskádách, buněčném růstu a cyklu, zajišťují energetický metabolismus buňky. Mají podíl na udržování hladiny Ca^{2+} a jsou zdrojem reaktivních forem kyslíku (ROS). Část mitochondriální DNA (o velikosti 16,6 kDa) je stále kódována v mitochondriích, ale většina byla začleněna do jaderného genomu. V mitochondriích jsou kódovány 2 rRNA, 22 tRNA a 13 proteinů dýchacího řetězce (Friedman and ri, 2014). Mitochondrie jsou dynamickými organelami, u kterých se mění jejich velikost a tvar v závislosti na původu a stavu metabolismu, může docházet i k vzájemné fúzi (Tilokani *et al.*, 2018).

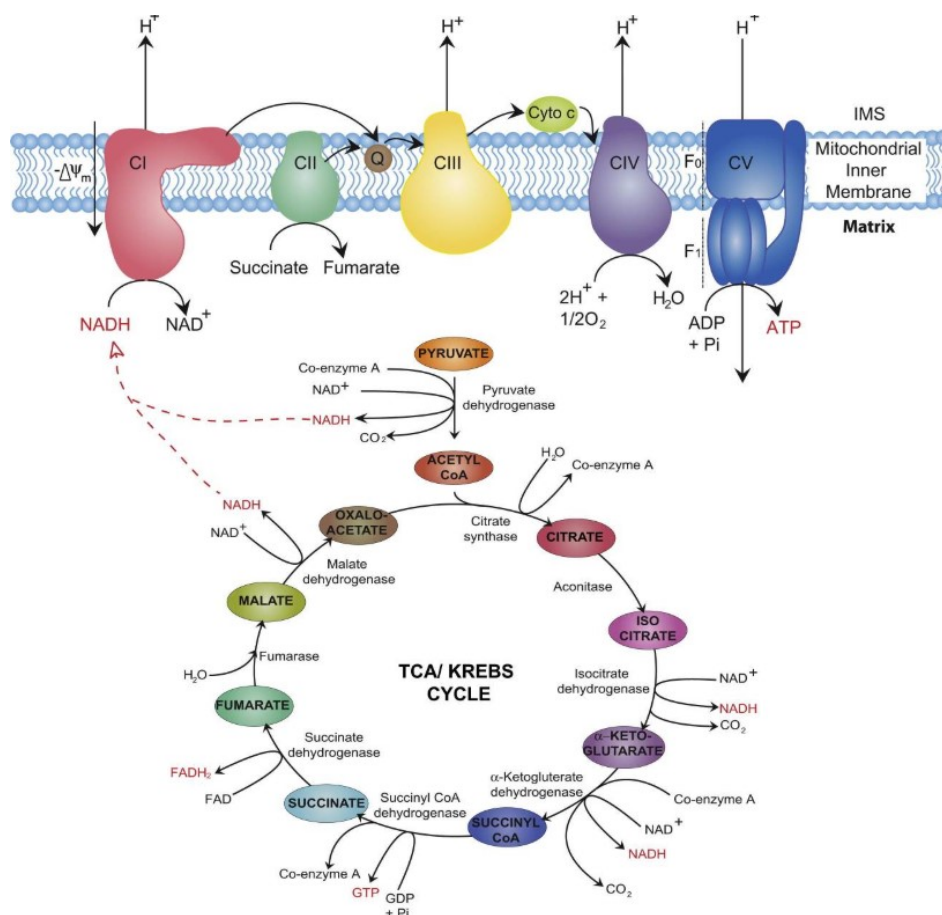
Mezi kompartmenty mitochondrií řadíme vnější mitochondriální membránu (OMM), mezimembránový prostor, vnitřní mitochondriální membránu (IMM), kristy a mitochondriální matrix. Mitochondriální membrány (MM) jsou tvořeny fosfolipidy, zejména fosfatidylcholinu a fosfoethanolaminu, v menším množství pak kardiolipinem (Tilokani *et al.*, 2018). Molekuly mohou OMM procházet poriny nebo mohou být transportovány pomocí translokázy vnější mitochondriální membrány (TOM) (Seki *et al.*, 1995). V úzkém kontaktu s MM je endoplazmatické retikulum (ER) a prostřednictvím výměny lipidů, Ca^{2+} a ROS mezi nimi může docházet k ER-mitochondriální signalizaci (Rieusset, 2018).

Mezimembránový prostor má podobné složení jako cytoplazma. Kristy tvořené IMM zvětšují povrch membrány, a tím i výkonnost energetického metabolismu. Na IMM se nachází komplexy dýchacího řetězce (komplex I, II, III, IV a V-ATP-syntáza), adenin nukleotid translokázy (ANTs) a odpřahující proteiny (UCP). Transport IMM zajišťuje komplex translokázy vnitřní mitochondriální membrány (TIM) (Pfanner and Meijer, 1997; Pfanner *et al.*, 1994). IMM odděluje mezimembránový prostor od mitochondriální matrix, která je bohatší na bílkoviny, a to hlavně na enzymy Krebsova cyklu. V mitochondriální matrix se také nachází nukleotidové enzymy, Ca^{2+} , mitochondriální DNA a příslušná RNA.

2.1.1 Bioenergetika mitochondrií

Srdce je vzhledem k jeho velké pracovní vytiženosti jedním z největších spotřebitelů ATP. Z tohoto důvodu obsahuje velké množství mitochondrií a je schopné reagovat na změny v dodávce substrátu a měnící se pracovní zátěži (Balaban, 2012; Ventura-Clapier *et al.*, 2011). Syntéza adenosintrifosfátu (ATP) je závislá na dostupnosti substrátů, jako jsou cukry, tuky

a proteiny. Acetyl-Co-A, který vstupuje do Krebsova cyklu, jehož výsledkem jsou redukované kofaktory NADH a FADH₂ (viz obr. č. 1), je získáván třemi způsoby i) v cytosolu glykolýzou cukrů na pyruvát, který je translokován do mitochondrií a následně konvertován na Acetyl-Co-A pomocí pyruvát dehydrogenázy, ii) beta oxidací mastných kyselin (MK), iii) přeměnou aminokyselin pomocí enzymů na pyruvát, acetyl-Co-A nebo na meziproducty Krebsova cyklu (Osellame et al., 2012).



Obrázek č 1: Komplexy dýchacího řetězce a Krebsův cyklus. Molekuly NADH a FADH₂ vznikají pomocí enzymů Krebsova cyklu z acetyl-Co-A. Na komplexu I dochází k přeměně NADH na NAD⁺. Uvolněné elektrony putují skrze komplexy dýchacího řetězce až na kyslík, který se reakcí s volnými protony přeměňuje na vodu. Transport elektronů pohání pumpování protonů do mezimembránového, díky čemu se tvoří membránový potenciál, který je využit k fosforylaci ADP + Pi na V komplexu, a tudíž k tvorbě ATP (převzato z Osellame, Blacker and Duchon, 2012).

2.1.2 Oxidativní fosforylace

Při oxidativní fosforylaci se tvoří hlavní zdroj pro tvorbu energie tak, že dojde k těsnému spřažení dvou procesů na vnitřní mitochondriální membráně, a to oxidaci substrátů pomocí respiračního řetězce a fosforylaci ADP na ATP, ke které je využita energie membránového potenciálu (Osellame, Blacker and Duchon, 2012).

Dýchací řetězec obsahuje 5 komplexů: komplex I (NADH dehydrogenáza), komplex II (sukcinát dehydrogenáza), komplex III (ubichinon cytochrom c oxidoreduktáza), komplex IV (cytochrom c oxidáza) a komplex V (F_1F_0 -ATP syntáza) (viz obr. č. 1), které se nachází v IMM. Redukované kofaktory NADH a FADH₂ dodané z Krebsova cyklu předávají elektrony komplexům I (NADH) a II (FADH₂) a odtud jsou přeneseny na kyslík, který je následně redukován komplexem IV na vodu. Komplex I, III a IV transportují protony, které se uvolnily oxidací vody, do mezimembránového prostoru, a tím se generuje elektrochemický membránový potenciál. Vniklý protonový gradient a transport protonů zpět do matrix, je využitý komplexem V, ATP-syntázou, k syntéze ATP z ADP + Pi. (Osellame et al., 2012).

2.1.3 Odpřažení oxidativní fosforylace

Komplex V není jediná možná cesta, jak mohou přecházet protony po elektrochemickém gradientu do mitochondriální matrix. Při odpřažení oxidativní fosforylace může dojít k přenosu protonů skrze póry ve IMM a energie, která by jinak byla využita pro tvorbu ATP se uvolní ve formě tepla (Scheffler, 2008). Teplo, které vznikne touto cestou má svou roli v případě tepelné homeostázy a tvoří 20 % bazálního metabolismu.

Odpřažení je zapříčiněno několika způsoby, například toxickými lipofilními ionofory, endogenními faktory a mitochondriálními přenašečovými proteiny, jako ANTs a UCP (Echtay, 2007; Nübel and Ricquier, 2006; Ricquier and Bouillaud, 2000).

2.2 Reaktivní formy kyslíku

Reaktivní formy kyslíku (ROS) jsou reaktivní sloučeniny vznikající z molekul kyslíku s nepárovým elektronem (superoxid $O_2^{\cdot-}$, hydroxylový radikál HO^{\cdot} , peroxy ROO^{\cdot} , hydroperoxy HO_2^{\cdot} a alkoxy RO^{\cdot}). K největší generaci ROS dochází zejména v transportním řetězci, kdy jsou hlavními producenty superoxidu komplex I a III (Murphy, 2009). Snížení tvorby ROS lze docílit zvýšením permeability IMM pro protony, čímž dojde ke zvýšení rychlosti transportu elektronů, anebo působením antioxidantů (kataláza, superoxid dismutáza, glutathion peroxidáza) (Morin et al., 2009).

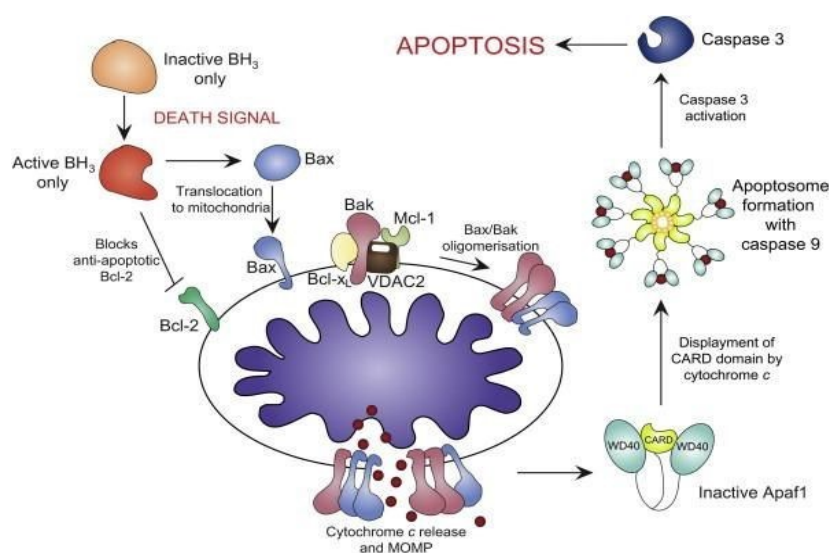
ROS mají důležitou roli při fagocytóze (Dupré-Crochet et al., 2013) a podílejí se na regulaci jaderného transkripčního faktoru NF- κ B, který spouští zánětlivou reakci organismu (Hayden and Ghosh, 2008). Jejich působením zároveň dochází k oxidačnímu poškození lipidů, proteinů a mitochondriální DNA (Murphy, 2009). ROS hrají roli v patofyziologii srdce, jakožto v ateroskleróze, infarktu, hypertenzi (Griendling and FitzGerald, 2003) a jejich redukce je jednou z cest kardioprotekce.

2.3 Apoptóza

Mitochondrie se podílí na apoptóze, což je fyziologický proces, při kterém dochází k odstranění buněk, aniž by došlo k poškození jejich okolí, jako je tomu při nekróze. Apoptóza může být zahájena dvěma způsoby, a to vnější a vnitřní cestou.

Vnější cesta apoptózy neboli dráha receptoru smrti je zahájena aktivací membránových receptorů, jako je receptor pro tumor nekrotizující faktor (TNF) a Fas receptor. Po navázání ligandů dochází k aktivaci tzv. domény smrti (DD) na intracelulární straně, ta aktivuje kaspázu 8 a následně kaspázu 3 (Cas-3) podílející se na zahájení efektorové fáze (Frisch, 1999; Reed, 2000).

V případě vnitřní dráhy apoptózy (viz obr. č. 2) závislé na mitochondriích, hraje důležitou roli cytochrom c, který se po uvolnění z mezimembránového prostoru váže v cytoplazmě na CARD (kaspáza náborové domény) doménu apoptotické proteázy aktivující faktor-1 (Apaf1). Vzniklý komplex naváže pro-kaspázu 9 a vytvoří se tak apoptozom, následně dojde ke vzniku funkční Cas-3 a zahájení efektorové fáze. Tvorba mitochondriálního póru přechodné permeability (MPTP) na OMM, kterým je cytochrom c vyplavován, je regulovaná působením proteinů Bcl rodiny. V případě, že převažují pro-apoptotické proteiny (Bax, Bak) nad anti-apoptotickými proteiny (Bcl-2, Bcl-xL), dojde k otevření MPTP (Papaliagkas et al., 2007; Reed, 2000).

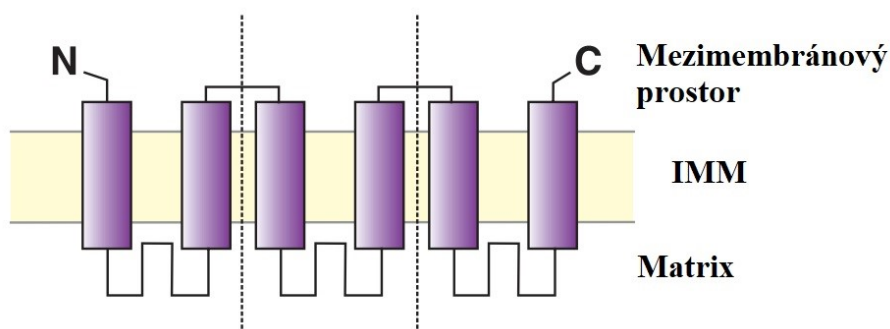


Obrázek č.2: Cesta vnitřní apoptózy. BH3 proteiny aktivované apoptotickým signálem inaktivují Bcl-2 a aktivují translokaci Bax do mitochondrií. Kanály v membráně jsou tvořeny Bax/Bak a proudí nimi cytochrom c do cytoplazmy, kde se váže na CARD doménu. Vytvoří se apoptozom obsahující kaspázu 9 a dojde k aktivaci kaspázy 3 a samotné apoptóze (převzato z Osellame, Blacker and Duchon, 2012).

Zvýšená koncentrace Ca^{2+} v mitochondriích a produkce ROS v průběhu ischemicko-reperfuze (I/R) poškození indukují MPTP a iniciují tak apoptózu (Chen *et al.*, 2015). K otevření MPTP dochází působením oxidativního stresu, nahromaděním Ca^{2+} v mitochondriální matrix, vyčerpáním adeninových nukleotidů nebo nahromaděním fosfátů (Stansfield *et al.*, 2014). Ovlivnění dynamiky Ca^{2+} by se mohlo projevit na funkci signálních kaskád a ovlivnit tak zmíněnou iniciaci. Práce Teshima a kolektivu (Teshima *et al.*, 2003) poukázala na již známý fakt, že pomocí zvýšené exprese UCP2 dochází k redukci produkce ROS a zároveň k prevenci hromadění Ca^{2+} v mitochondriích. K tomuto jevu pravděpodobně docházelo skrze částečnou depolarizaci membránového potenciálu, který je hnací silou pro příjem Ca^{2+} . V průběhu I/R poškození působí stejným způsobem i UCP3 (Chen *et al.*, 2015). Je otázkou, jestli lze pomocí UCP2 a 3 možné depolarizovat membránu v požadovaném rozsahu nebo jestli dochází pouze k regulaci rychlosti příjmu Ca^{2+} (Nicholls, 2002). Zvýšená exprese UCP2 a 3 by tudíž mohla eliminovat otevírání MPTP, jakožto jednoho ze spouštěčů apoptózy.

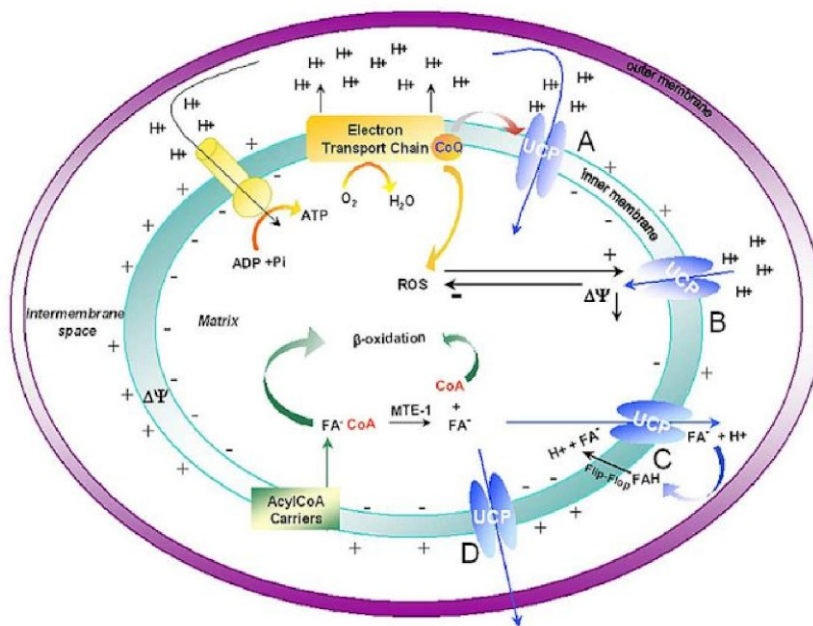
3 Odpráhuující proteiny (UCP)

Odpráhuující proteiny (UCP) řadíme do rodiny metabolických aniontových přenašečů (MAPC), které se nachází na IMM. Mezi MAPC řadíme také například i přenašeče adeninových nukleotidů (ANT), fosfátové a oxoglutarátové přenašeče. Doposud je nám známo pět homologů UCP (UCP1, 2, 3, 4, 5) s tkáňově specifickou expresí (viz obr. č. 5), ale kromě UCP1 nejsou funkce ostatních homologů jednoznačně stanovené. Molekulární hmotnost UCP je 31–34 kDa a mají trojdílnou strukturu, kdy každá struktura obsahuje tři části, a to dva hydrofobní úseky a jednu hydrofilní smyčku, která je spojuje (viz obr. č. 3). Membránou tudíž procházejí šestkrát, karboxylový i aminový konec vyčnívá do mitochondriálního mezimembránového prostoru a funkční jednotkou je homodimer (Ježek and Garlid, 1998; Ledesma *et al.*, 2002).



Obrázek č. 3: Struktura UCP (upraveno podle Ledesma *et al.*, 2002).

Nejznámější funkcí UCP je transport protonů z mezimembránového prostoru zpět do matrix po koncentračním gradientu bez přítomnosti tvorby ATP a snižování membránového potenciálu buňky. Mezi další funkce se řadí redukce ROS, přenos aniontů mastných kyselin zahrnutých v cyklu mastných kyselin skrz IMM a transport mastných kyselin ven z mitochondrie (viz obr. č. 4). UCP mají všichni savci a byly také nalezeny u ryb, ptáků, rostlin a hub (Ledesma et al., 2002; Rousset et al., 2004). Inhibitori UCP zajišťují purinové nukleotidy (ATP, ADP, GTP a GDP), zatímco jejich aktivaci mají na starost mastné kyseliny (Nicholls and Locke, 1984).



Obrázek č. 4: Funkce UCP. A) UCP jako odpřahovač oxidativní fosforylace B) ROS aktivovaný slabý tok protonů C) UCP jako přenašeč aniontů mastných kyselin zakomponovaný v cyklu mastných kyselin skrz IMM D) UCP jako transportér aniontů mastných kyselin z mitochondrie (převzato z Lanni et al., 2003.)

3.1 Odpřahující protein 1 (UCP1)

Prvním objeveným a nejprozkoumanějším odpřahujícím proteinem je UCP1, označován jako termogenin, který se nachází v hnědé tukové tkáni (BAT; viz obr. č. 3) (Nicholls and Rial, 1999), v poměrně nově objeveném třetím typu tukové tkáně, a to v běžové tukové tkáni (Shabalina et al., 2013) a v epikardiální tukové tkáni (Chechi et al., 2017).

Hnědá tuková tkáň se vyskytuje u hibernujících zvířat, novorozeňat a savců vystavených chladu (Hernández and Obregón, 2000) a má na starost produkci tepla prostřednictvím netřesové termogeneze. UCP1 transportuje protony z mezimembránového prostoru skrz IMM do matrix a energie, která by jinak byla použita na syntézu ATP z ADP + Pi, se uvolní ve formě tepla (Busiello et al., 2015).

3.2 Odpřahující protein 2 (UCP2)

V roce 1997 došlo k objevu prvního homologu termogeninu, a to UCP2, který se nacházel v různých typech tkání u myši a lidí. S lidským typem UCP1 je z 59 % homologní (Fleury et al., 1997). Tento homolog můžeme najít v bílé tukové tkáni (WAT), srdci, plicích, slezině, brzlíku a v buňkách s rychlou proliferací, jako jsou pluripotentní kmenové, rakovinné a imunitní buňky (viz obr. č. 5) (Fleury and Sanchis, 1999; Fleury et al., 1997; Pohl et al., 2019). UCP2 se také vyskytuje ve velké míře v srdci embrya myši a v jeho ranném stádiu vývoje (Hilse et al., 2018).

O funkci UCP2 bylo vysloveno několik hypotéz, ale primární roli bude nejspíše hrát v regulaci metabolismu mastných kyselin a glukózy, syntéze ATP a v produkci ROS (Boss et al., 1997). Vzhledem k tomu, že tkáňový výskyt UCP2 oproti UCP1 je o 1-2 řády nižší (Zackova et al., 2003), může jeho působením docházet k mírnému odpřažení oxidativní fosforylace a velmi mírné disipaci energie ve formě tepla, jako tomu je v případě UCP1. Výsledkem je snížení membránového potenciálu IMM a produkce ATP.

3.3 Odpřahující protein 3 (UCP3)

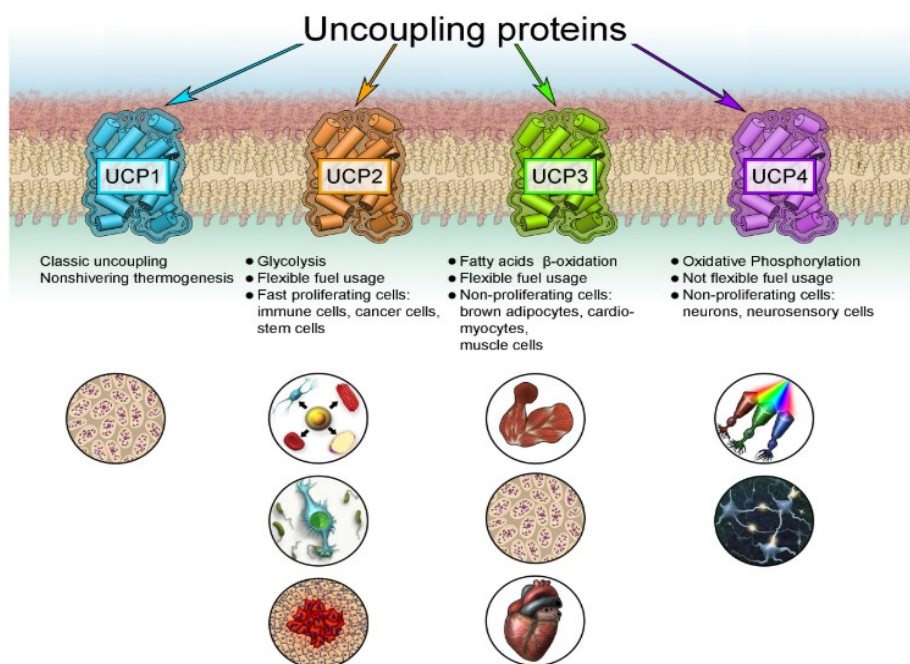
K objevu třetího homologu, UCP3, došlo rovněž roku 1997, je z 59 % homologický k UCP1 a ze 73 % k UCP2. K jeho expresi dochází v BAT, plicích, srdci a ve velké míře v kosterní svalovině (viz obr. č. 5) (Alán et al.; Boss et al., 1997a).

Stejně jako v případě UCP2 je jednoznačná role UCP3 nejasná, ale odhaduje se, že jeho funkcí je ochrana srdce před lipotoxicitou (Nabben et al., 2014) a snižování tvorby ROS (Vidal-Puig et al., 2000).

3.4 Odpřahující protein 4 (UCP4) a 5 (UCP5)

Mezi homologii UCP4 a UCP5 k dříve objeveným UCP není výrazný rozdíl. S UCP1 činí homologie 32–34 %, s UCP2 34–38 % a s UCP3 35–37 % (Pohl et al., 2019). Čtvrtý a pátý homolog můžeme najít v buňkách s nízkou proliferací, jako jsou neurony a neurosensorické buňky (viz obr. č. 5). UCP5 se navíc vyskytuje ve varlatech, kde by se mohl podílet na udržení tepelné homeostázy, která je důležitá při vývoji spermií (Yu et al., 2000).

Přisuzovanou rolí UCP4 a UCP5 je ochrana proti oxidačnímu stresu, jelikož jejich prostřednictvím dochází ke snížení produkce ROS (Ramsden et al., 2012; Smorodchenko et al., 2009; Yang et al., 2002).



Obrázek č. 5: Tkáňově specifická exprese UCP (převzato z Pohl et al., 2019).

4. Tyroidní systém

Hormony štítné žlázy zaujímají významnou roli v regulaci energetického metabolismu jak u savců, tak ptáků. Dochází k tomu skrze regulaci transkripce genů podílejících se na energetickém metabolismu prostřednictvím vazby na jaderné receptory tyroidních hormonů alfa ($TR\alpha$) a beta ($TR\beta$). Mohou tak mít přímý vliv na aktivitu složek dýchacího řetězce, jako jsou ATPázy a UCP (Collin et al., 2005; Lanni et al., 2003).

Funkce tyroidního systému je nezbytná pro správný neonatální vývoj a regulaci metabolismu. K tvorbě tyrotropin uvolňujícího hormonu (TRH) dochází v hypotalamu, ze kterého je sekretován do přední části hypofýzy, adenohypofýzy, kde dochází k vytvoření tyrotropinu (TSH), který působí na štítnou žlázu a vyvolá produkci trijodtyroninu (3-5-3'-trijodtyronin, T3) a tyroxinu (3-5-3'-5'-tetratyroxin, T4). T3 a T4 jsou jodizované deriváty tyrosinu, které regulují metabolické aktivity buňky tím, že se váží na $TR\alpha$ a $TR\beta$ a ovlivňují transkripci genů (Latham et al., 1976). Jednoduchou zpětnou vazbou T3 a T4 inhibují tvorbu TSH a TRH. Na regulaci tvorby TSH se podílí dopamin, somatostatin a leptin (Mullur et al., 2014; Ortega-Carvalho et al., 2014).

Dejodázy jsou zodpovědné za přeměnu prohormonu T4 na biologicky aktivní T3. Působením dejodázy prvního typu (5'-dejodáza, D1) vzniká většina T3, který je potřebný

pro růst, diferenciaci a bazální metabolismus obratlovců. Konverze katalyzována dejodázou druhého typu (D2) vede k lokální produkci T3 (Croteau et al., 1996). Dejodáza třetího typu (D3) konvertuje a tím deaktivuje T4 a T3 na T2 (3-3'-dijodthyronin) a neaktivní rT3 (3-3'-5'-trijodthyronin) (Hernandez et al., 2006).

Aktivace extracelulárně aktivované proteinkinázy (ERK) a fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K) pomocí T3 vede ke genové transkripci a začlenění sodno-draselné pumpy do plazmatické membrány. Dále mají TH vliv na zvyšování počtu mitochondrií, tudíž může dojít ke zvýšení tvorby ATP (Cheng et al., 2010). Na TH jsou závislé zejména dva mitochondriální transkripční faktory kódované v jádře, a to chladem indukovaný koaktivátor 1 alfa receptoru pro peroxizomový proliferátor (PGC-1) (Wu et al., 1999) a mitochondriální transkripční faktor A (Fisher et al., 1992; Marin-Garcia et al., 2000).

4.1 Tyroidní systém a srdce

Pro normální funkci kardiovaskulárního systému je důležité udržovat správnou homeostázu hormonů štítné žlázy. Odchytky od normálního stavu (eutyreóza), které se označují jako nadbytek (hypertyreóza) a nedostatek (hypotyreóza) mohou vést k rozvoji kardiovaskulárních onemocnění, včetně srdečního selhání (HF) (Gerdes and Iervasi, 2010). Tyroidní hormony mohou zvýšit tepovou frekvenci, kontraktilní funkci srdce a žilní tonus okamžitě, což má vliv na srdeční předtížení (preload) a srdeční výdej. T3 snižují systémovou cévní odolnost relaxací hladké svaloviny cév (Fukuyama et al., 2003) a zvyšují citlivost myokardu k adrenergnímu systému tím, že zvýší počet adrenergních membránových receptorů (von Hafe et al., 2019). Citlivost srdce na změny koncentrace T3 je vysoká hlavně proto, že schopnost konverze T4 na T3 kardiomyocyty je zanedbatelná a srdce je tedy závislé na cirkulující T3 (Gerdes and Iervasi, 2010).

Nedostatek TH se může projevit zvýšením hodnot cholesterolu v krvi, rozvojem aterosklerózy, fibrózou myokardu (Gerdes and Iervasi, 2010), zpomalením srdeční frekvence a relaxace, zvýšením krevního tlaku, prodloužením intervalu mezi Q a T vlnou a modifikací vlny T (Fazio et al., 2004). Chronická hypotyreóza pak způsobí zhoršení průtoku krve, změnu tvaru kardiomyocytů a rozvoj HF (Gerdes and Iervasi, 2010).

V případě nadbytku TH je možné pozorovat atriální fibrilace, zvýšení srdeční frekvence a dráždivosti (Fazio et al., 2004). V návaznosti na zvýšení systolického arteriálního tlaku a snížení diastolického tlaku způsobeného vasodilatací je možno pozorovat vysoký pulzní tlak (von Hafe et al., 2019).

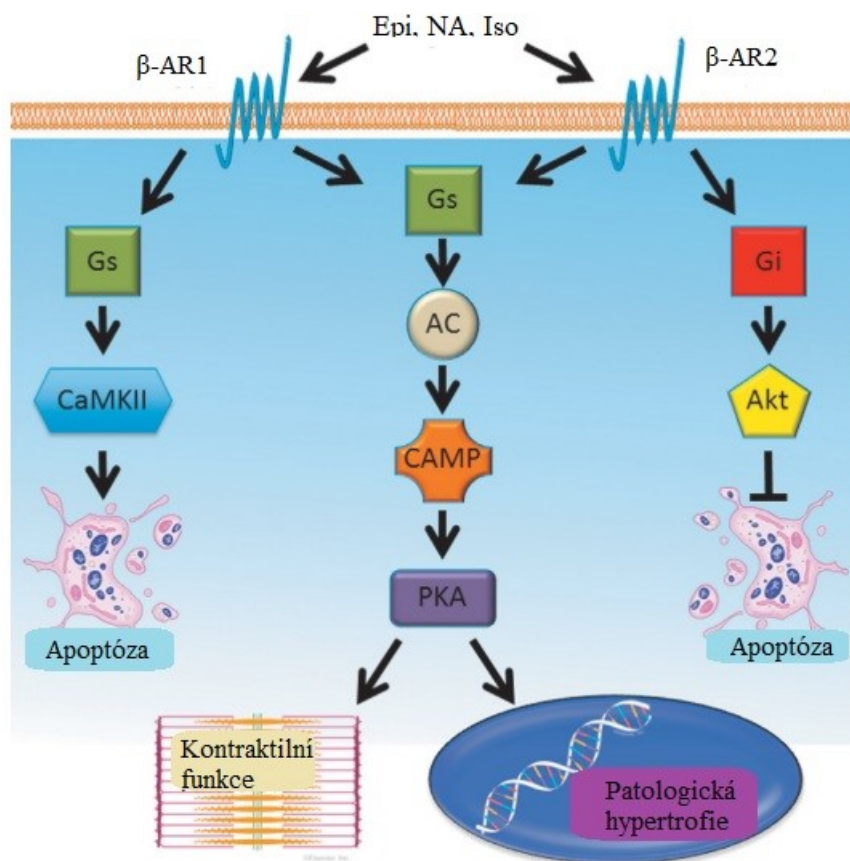
Srdce je schopné reagovat na změnu v poptávce indukovanou postnatálním růstem, cvičením, těhotenstvím a vyšší hladinou TH, což zapříčiní větší hemodynamickou zátěž na srdce. V reakci na zátěž dojde k hypertrofii kardiomyocytů, což vede k udržení adekvátního srdečního výdeje, kontraktilní účinnosti a udržení napětí v srdeční stěně. Ne všechny hemodynamické změny jsou fyziologické. V případě že dojde k hypertenzi, onemocnění chlopní, srdeční ischemii nebo ztrátě funkční tkáně po infarktu myokardu, následuje patologická remodelace a ta způsobuje dysfunkce v kontraktilitě a chronické srdeční selhání (Bernardo et al., 2010).

4.1.1 Tyroidní hormony a adrenergní stimulace

V srdci dochází k expresi β -adrenergních receptorů (β -AR), zejména β -adrenergní receptor 1-a 2 (β -AR1 a β -AR2), které jsou aktivovány katecholaminy (viz obr. č. 6). Po aktivaci β -AR1 a β -AR2 dochází k vazbě na stimulační G-protein (Gs), který aktivuje adenylcyklázu (AC), následně cyklický adenosinmonofosfát (cAMP) a proteinkinázu A (PKA). Vazba na adenylcyklázový inhibiční protein (Gi) je možná pouze skrze β -AR2 (Kim et al., 2005). O tom, jestli se bude β -AR2 vázat na Gs nebo Gi protein rozhoduje fosforylace PKA, kdy fosforylovaná forma PKA způsobí vazbu na Gi (Zamah et al., 2002).

V průběhu HF dochází ve větší míře ke stimulaci β -AR1 a jeho nadměrná exprese vede k apoptóze a vyvolání hypertrofie (Wachter and Gilbert, 2012). Stimulací β -AR1 se docílí indukce apoptózy skrze Ca^{2+} /calmodulin-dependentí proteinkinázu (CaMKII). Proto je blokáda těchto receptorů jednou ze známých forem léčby pacientů s HF. Aktivaci drah, které vedou k přežití buněk je zprostředkována skrze β -AR2 (Berthiaume et al., 2016; Kim et al., 2005).

Léčba TH způsobuje zvýšení hladiny β -AR, přednostně pak β -AR1, který má vliv na zvýšení množství srdečního Gs proteinu a snížení Gi proteinu u nezralých komorových kardiomyocytů potkanů, ale po dosažení dospělosti dochází k normalizaci hodnot těchto proteinů (Bilezikian et al., 1979; Kim et al., 2005). Mezi stavem štítné žlázy a aktivitou adenylcyklázy v srdci je korelace (Kim et al., 2005), což značí, že TH mohou regulovat účinky β -AR. Podporuje to i fakt, že v hypertyroidním stavu bylo pozorované zvýšení adrenergní aktivity za normálního oběhu katecholaminů (Harrison, 1964), což může být způsobeno zvýšenou citlivostí na katecholaminy asociované se změnami v β -AR (Williams et al., 1977).



Obrázek č. 6: β-adrenergní signalizace v průběhu srdeční hypertrofie. Prostřednictvím katecholaminů, jako je epinefrin (Epi), noradrenalin (NA) a isoproterenolu (Iso) dochází ke stimulaci adrenergických receptorů β-AR1 a β-AR2. Vazbou katecholaminů na tyto receptory dochází ke stimulaci G proteinů, se kterými jsou propojeny. β1-AR stimuluje aktivitu Gs proteinů, zatímco β-AR2 může ovlivňovat aktivitu jak Gs, tak Gi. V případě aktivace Gs skrze β-AR1 může dojít k aktivaci Ca^{2+} /calmodulin-dependentní proteinkinázy (CaMKII), která stimuluje apoptózu nebo k aktivaci adenylcyclázy (AC), následně cyklického adenosinmonofosfátu (CAMP) a proteinkinázy A (PKA). Tuto signální kaskádu jde ovlivnit i stimulaci Gs prostřednictvím β-AR2 a v obou případech to vede ke ovlivnění kontraktilní funkce a k patologické hypertrofii. Aktivací Gi proteinu vede prostřednictvím Akt k inhibici apoptózy (upraveno podle Berthiaume et al., 2016).

4.2 Tyroidní hormony a odpřahující proteiny

Receptory $\text{TR}\alpha$ mají na starost udržování synergie mezi tyrodními hormony a sympatickou nervovou soustavou. K aktivaci transkripce UCP1 v BAT dochází v odpovědi na chlad a adrenergní stimulaci, která je amplifikovaná TH, které se vážou na $\text{TR}\beta$. Díky tomu, že se v BAT vyskytuje D2, která je aktivovaná adrenergní stimulací, může docházet ke konverzi T4 na T3, následné aktivaci této dráhy a optimální tvorbě tepla (Bianco and Silva, 1987; Cioffi et al., 2018; Hernández and Obregón, 2000). Jelikož se D2 vyskytuje i v lidském srdci (Salvatore et al., 1996), může zde také dojít ke zvýšení hladiny TH prostřednictvím adrenergní stimulace (Salvatore et al., 1996). Působením na adrenergní systém lze ovlivnit i hladinu mastných kyselin (MK), kdy prostřednictvím PKA dochází k fosforylaci hormon-senzitivní lipázy, která spouští

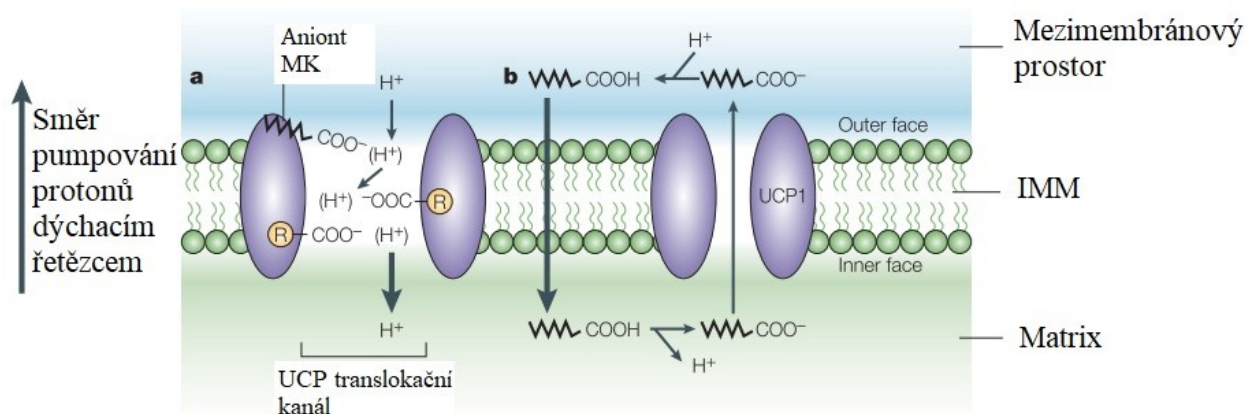
lipolýzu (Holm et al., 2002) a zvýšená hladina MK dále mění míru exprese UCP, jak bude ještě zmíněno.

K adrenergní stimulaci BAT a expresi UCP1 stačí i malá koncentrace T3. Dodání T3 (0,2 nM) do média s BAT, které neobsahuje TH, způsobí až 30 násobnou odpověď na noradrenalin (NA) (Hernández and Obregón, 2000). Důležitou roli TH pozoroval i Silva (Silva, 1988), kdy v případě hypotyroidních jedinců vystavených chladu nedocházelo k hromadění mRNA UCP1, jelikož tuková tkáň nebyla schopná reagovat na katecholaminy. Podání T3 vedlo po 4 hodinách ke zvýšení koncentrace mRNA UCP1. T3 tedy pomáhá amplifikovat adrenergní stimulaci exprese a transkripce mRNA UCP1 u myši vystavených chladu (Hernández and Obregón, 2000).

V práci Lanniho a kolektivu (Lanni et al., 1997) byl zkoumán efekt TH na regulaci UCP2 v srdci, játrech, kosterní svalovině a ledvinách. Do krys s normálně fungující štítnou žlázou a krys se sníženou funkcí štítné žlázy, u kterých došlo k inhibici deiodáz, byly odděleně vpraveny T4 a T3, aby bylo možné rozlišit jejich jednotlivé efekty. V prvním případě nedošlo po podání T3 a T4 ke změně exprese UCP2. Naopak u jedinců se sníženou funkcí štítné žlázy, kdy před podáním T3 byla exprese mRNA UCP2 nízká, došlo po jeho aplikaci k výraznému zvýšení jeho exprese. Podání T4 způsobilo také nárůst v hodnotách mRNA UCP2, ale tato změna nebyla tak výrazná, jako v případě T3. Tento efekt pozorovali v srdci a v menší míře v kosterní svalovině, zatímco v játrech a ledvinách byl efekt téměř nepozorovatelný. Změny v expresi indukované T3 jsou orgánově specifické a jsou nejefektivnější v srdci. Rozdíl v působení T3 a T4 u jedinců se sníženou funkcí štítné žlázy je nejspíš způsoben nedostatečnou konverzí T4 na T3, jelikož u krys s normálně funkční štítnou žlázou a funkčními deiodázami nebyla pozorována rozdílná míra působení.

5. Odpřahující proteiny a mastné kyseliny

Na regulaci transportu protonů přes UCP1 za pomoci MK jsou dva pohledy (viz obr. č. 7). Prvním z nich je protonový pufrovací model (viz. obr. č 7a), kdy se protony vážou na karboxylovou skupinu MK a ta je dodává na místo UCP1, kde dojde k přesunu protonů do matrix mitochondrií (Klingenberg, 1999; Klingenberg and Echay, 2001). Druhý názor podává pohled na hypotézu cyklování MK (viz. obr. č 7b). Předpokládá se, že protonovaná MK prochází skrze IMM tzv. flip-flop mechanismem, v matrix dochází k její deprotonaci a následnému průchodu MK zpět do mezimembránového prostoru skrze UCP1 (Garlid et al., 2001; Skulachev, 1991).



Obrázek č. 7: Teorie transportu protonů prostřednictvím MK. Protonový pufrovací model (a) a hypotéza cyklování MK (b) (upraveno podle Krauss et al., 2005).

Jak už bylo řečeno, pomocí MK dochází k aktivaci UCP (Ledesma et al., 2002) a zároveň lze prostřednictvím UCP docílit transportu přebytečných MK z matrix mitochondrií ven do IMM (viz. obr. č. 4), jelikož nadměrná koncentrace MK v mitochondriích je toxická (Echtay, 2007).

U kardiomyocytů embryí je glykolytický typ metabolismu a vyšší koncentrace UCP2, zatímco u dospělců převládá β -oxidace MK a UCP3 (Hilse *et al.*, 2018). Nejvyšší koncentraci dosahuje UCP3 a β -oxidace MK u myši v druhém měsíci života a s postupným stárnutím se snižuje za opětovného zvyšování glykolýzy v srdci. Ke zvýšené expresi UCP3 dochází po chladové expozici a zvýšeném množství lipidů v plazmě (Pohl et al., 2019). Naopak nízkou dodávkou MK lze docílit snížení exprese UCP2 a UCP3 v srdci (Young et al., 2001).

5.1 Kardioprotektivní účinky UCP a mastné kyseliny

Jedincům, kterým byla po dobu 14 dnů podávána dieta s vysokým obsahem tuků (high fat diet, HFD) a měli inhibovanou oxidaci MK, byla pozorovaná role UCP3 v protekci srdce. Od 6. dne na HFD byl polovině jedincům podáván etamoxir, druhá pak dostávala fyziologický roztok. U obou případů byly dvě testovací skupiny, kontrolní (WT) s aktivním UCP3 a skupina, která UCP3 postrádala (UCP3^{-/-}). Aplikací etamoxiru, který nezvratně inhibuje carnitin palmitoyl transferasu-1 (CPT-1) nezbytnou pro transport MK do mitochondrií, lze docílit snížení oxidace MK a zesílení indukce UCP3 u lidí i hlodavců. Docházelo ke zvýšenému úmrtí v případě UCP3^{-/-} jedinců s aplikovaným etamoxirem, ale bylo popřeno, že ke zvýšenému úmrtí docházelo z důvodu lipotoxicity nebo snížení funkce dýchacího řetězce. Hodinu po aplikaci etamoxiru pozorovali i elektrofyziologické abnormality, kdy v případě UCP3^{-/-} došlo k viditelnému zpoždění komorového vedení a prodloužení intervalu potřebného pro

depolarizaci a repolarizaci, což může mít vliv na arytmogenesi a náhlou srdeční smrt. Podání etamoxiru UCP3^{-/-} vedlo i k delším QRS intervalům než u WT jedinců, došlo také k prodloužení intervalů QT a zvýšení náchylnosti k tachykardii, což potvrdila i programovaná elektrická stimulace. Při programované elektrické stimulaci byla komorová tachykardie u 60 % UCP3^{-/-} jedinců, zatímco u WT to bylo jen z 22 % (Boudina et al., 2012; Nabben et al., 2014). Je tedy možné, že UCP3 hraje důležitou roli v případě protekce srdce, které je vystaveno abnormálnímu metabolismu lipidů a jeho absence vede ke zvýšenému riziku náhlého srdečního selhání (Nabben et al., 2014).

Kukat a kolektiv (Kukat et al., 2014) ve své práci připsali roli UCP2 v ochraně před patologickými změnami v kardiomyocytech u myši s mutovanou mitochondriální DNA, která vyvolala respirační deficit. Poukázali na to, že zvýšené množství UCP2 nemělo vliv na redukci ROS a neovlivňovalo kinetiku toku protonů, jak by se čekalo, ale docházelo k podpoře oxidace MK a zabránění produkci laktátu. U mutovaných jedinců byla hladina CPT-1 trojnásobná, zatímco hladina glukózových transportérů regulovaných inzulinem (GLUT4) klesla. Tyto změny tedy poukazovaly na zvýšenou absorpci MK, jejich oxidaci a využití v momentu, kdy v případě deficitního respiračního řetězce nemůže docházet k aerobní glykolýze. Způsobuje to ochranu před laktátovou acidózou, která je zapříčiněna systémovým respiračním deficitem. Dojde tak k opoždění známek mitochondriální kardiomyopatie a delšímu přežití mutantních myši.

5.2 Odpráhuující proteiny a receptory aktivované proliferátory peroxizomů (PPAR)

Receptory aktivované proliferátory peroxizomů (PPAR) patří do rodiny ligandem aktivovaných jaderných receptorů, které mohou být aktivované MK, jejich deriváty a PGC-1. Po vazbě ligandu spolu s retinoidním X receptorem, který váže kyselinu 9-cis retinovou, tvoří heterodimer, který následně nasedá na responzivní elementy peroxisomálních proliferátorů (PPRE) a dochází tak ke zvýšení exprese genů (Amber-Vitos et al., 2016; Duncan, 2011). U lidí a hlodavců jsou popsány tři podtypy: PPAR α , PPAR β/δ , PPAR γ a jsou charakterizované jako transkripční faktory, které regulují geny zahrnuté v regulaci energetické homeostázy, metabolismu lipidů, glukózy a hrají roli v diferenciaci adipocytů. V srdci se tak PPAR α podílí na zajištění dostatku energie pro jeho práci (Braissant et al., 1996).

Se změnami v energetickém metabolismu srdce mohou jít ruku v ruce změny v transkripci genů, které kódují proteiny zahrnuté v transportu substrátů a metabolismu (van Bilsen, van der Vusse and Reneman, 1998). Vazba MK na PPAR ovlivňuje genovou expresi srdečních proteinů, jako jsou UCP v mitochondriích. Například vystavení potkaních neonatálních

kardiomyocytů MK s dlouhým řetězcem vede k jejich vazbě na PPAR α a PPAR β/δ a k následnému nárůstu mRNA UCP2 (Gilde et al., 2003). Zvýšená exprese PPAR α v srdci vede k dvojnásobnému nárůstu mRNA UCP2, v případě mRNA UCP3 až pětinasobnému (Finck et al., 2002). Naopak v případě absence PPAR α (PPAR α -/-) dochází ke snížení množství mRNA UCP3 a hodnoty UCP2 zůstávají neměnné (Young et al., 2001). Snížení koncentrace MK pak vede k nižší produkci UCP2 i UCP3 (Young et al., 2001).

V práci Murraye a kolektivu (Murray et al., 2005) se zaměřili na regulaci srdečních UCP na úrovni proteinů, prostřednictvím plazmatických volných MK skrze PPAR α . V případě myší, které PPAR α postrádaly (PPAR α -/-) byla koncentrace UCP2 a UCP3 nižší, což naznačuje, že změny v koncentraci proteinů nemusí zrcadlit změny na úrovni mRNA. Zároveň podávání ligandu PPAR α , WY-14.643, vedla k nárůstu koncentrací obou proteinů, nezávisle na tom, jestli měli aplikovaný etamoxir, ale pouze v případě WT. Nežádoucí akumulace MK by skrze PPAR α indukovanou expresi UCP mohla vést ke zvýšení energetického deficitu, který přispívá k mortalitě HF (Fillmore et al., 2014).

V průběhu oxidativního stresu způsobí UCP2 mírné odpřažení, které sníží protonový gradient v IMM a redukuje tak ROS (Nègre-Salvayre et al., 1997), což potvrzuje fakt, že zvýšená exprese UCP2 v kardiomyocytech vede k vyšší míře tolerance k oxidativnímu stresu a redukcí produkce ROS (Teshima et al., 2003). Studie Songa a kolektivu (Song et al., 2016) se zaměřovala na to, zda ligand PPAR α , WY-14,643, udává protekci proti I/R poškození. Léčba užitím WY-14,643 vedla k aktivaci PPAR α a následnému zvýšení exprese UCP3 *in vitro* a *in vivo*, která vedla k nižší produkci ROS. Po delecí UCP3 nebylo možné pozorovat protekci na srdci, tudíž bylo poukázáno na to, že v případě PPAR α zprostředkované kardioprotekci hraje UCP3 významnou roli.

6. Odpřahující proteiny a tuková tkáň

Nejznámější úloha UCP1 v BAT je termogeneze. Ke stimulaci BAT dochází prostřednictvím sympatického nervového systému, a to vazbou NA na β -AR (Asano et al., 1997). Vazba NA zapříčiní aktivaci adenylecyklázy, nárůst cAMP a následně proteinkinázy A. Tento sled událostí vede k aktivaci PGC-1 (PPAR γ koaktivátor), který má vliv na indukci exprese UCP1 a termogeneze v BAT, kde vlivem chladové expozice dochází ke zvýšené expresi UCP1 (Hondares et al., 2011; Puigserver et al., 1998).

6.1 Kardioprotektivní účinky UCP a tukové tkáně

Jak již bylo zmíněno, v epikardiální tukové tkáni (EFT) dochází k expresi UCP1 (Chechi et al., 2017). Vystavením chladu, které vede k aktivaci UCP1, dochází za jeho pomoci k produkci tepla, což může mít vliv na ochranu srdce před hypotermií (Sacks et al., 2009). Zvýšená exprese UCP1 zároveň vede ke snížení generace ROS a TNF- α (Chechi et al., 2019). Prostřednictvím EFT dochází k sekreci cytokinů, například adiponektinu, který působí antiaterogenně, má vliv na redukci ROS a na produkci protizánětlivých faktorů (Turer and Scherer, 2012). Zvýšenému výskytu EFT je ale přisuzovaná role v rozvoji CVD a je asociován s metabolickým syndromem, při kterém je možné pozorovat hypertenzi, zánětlivou odpověď a poruchu v citlivosti na inzulin (Iacobellis et al., 2003). EFT by se mohla tudíž jevit jako slibná cesta v protekci srdce. Je ale důležité, aby její aktivace nevyústila v patofyziologické poškození srdce.

Od objevu přítomnosti BAT i u dospělých jedinců se začali vědci zabývat otázkou stimulace BAT a následných účinků v případě léčby obesity (Whittle et al., 2011). Jelikož je nadváha z jedním rizikových faktorů v případě kardiovaskulárních onemocnění, může mít stimulace BAT vliv i na kardioprotekci.

K stimulaci a růstu BAT přispívá NA a natriuretické peptidy (Bordicchia et al., 2012; Young et al., 1982), což jsou zároveň molekuly, které se uvolňují s aktivací sympatického nervového systému a objevují se po poranění myokardu a během vývoje nepříznivé remodelace levé komory (LV). Aktivace sympatického nervového systému následovaná uvolněním katecholaminů je ale v případě snížení funkce komorové pumpy důležitá. Díky katecholaminům dochází k udržení adekvátního srdečního výdeje. Jejich přebytek naopak zvyšuje úmrtnost kardiomyocytů a způsobuje nepříznivou remodelaci myokardu (Baker, 2014; Bordicchia et al., 2012; Sabatine et al., 2004).

Thoonen a kolektiv (Thoonen et al., 2015) se ve své práci zabírali otázkou role BAT v modulaci kardiovaskulárních rizikových faktorů. Zkoumali, zda dojde k aktivaci BAT po poranění myokardu a jestli je tato aktivace kardioprotektivní. Jako první prokázali vliv BAT na poškození kardiomyocytů a maladadaptivní remodelaci *in vivo*. Vystavením srdce nadměrné koncentraci isoproterenolu, agonisty adrenergických receptorů, docílili jeho poškození a porovnávali srdeční odezvu WT myši s funkčním BAT a UCP1-/- myši s nefunkčním BAT. U obou pozorovaných skupin došlo po aplikaci isoproterenolu ke zvýšení plazmatického srdečního troponinu I (cTnI), časného markeru infarktu myokardu (Sharma et al., 2004), myokardiální fibróze a k indukci hypertrofie LV. V případě UCP1-/- byla tato poškození mnohem horší, což bylo pravděpodobně zapříčiněno větším množstvím nekrotických buněk,

kteřé daly vzniknout arytmogenním ložiskům. U UCP1^{-/-} jedinců, kterým byla transplantovaná BAT s funkčním UCP1, došlo ke snížení uvolňování cTnI a zvýšila se pravděpodobnost přežití kardiomyocytů. Transplantace BAT s nefunkčním UCP1 neměla u WT jedinců žádný vliv na změnu v uvolňování zmíněného markeru (Benjamin et al., 1989; Thoonen et al., 2015). Zároveň byla u těchto jedinců pozorovaná výraznější hypertrofická remodelace LV, což mohlo být způsobeno odpovědí na zvýšenou fibrózu nebo tím, že tyto myši postrádaly funkční BAT, který působí anti-hypertrofně. Nedostatek UCP1 a doprovodná dysfunkce BAT tak zvyšuje poškození kardiomyocytů a nepříznivou remodelaci LV a snižuje přežití na myším modelu kardiomyopatie indukované katecholaminy.

V případě UCP1^{-/-} myších jedinců bylo po injekci glukózy možné pozorovat mírnou abnormalitu v glukózové toleranci a následně i problém v ustálení hodnot glukózy po aplikaci inzulínu. Transplantace BAT s funkčním UCP1 myším s disfunkčním UCP1 v BAT vedla ke zlepšení glukózové homeostázy (Thoonen et al., 2015). K modulaci kardiovaskulárních faktorů tedy BAT přispívá tím, že normalizuje glukózovou toleranci u myší (Stanford et al., 2013) a také u člověka, což bylo prokázáno v práci, kdy u zdravých jedinců došlo ke zvýšení citlivosti na inzulín aktivací BAT (Chondronikola et al., 2014). Poruchy v toleranci glukózy můžou například vést k hyperglykémii a následně k oxidativnímu stresu (Ormazabal et al., 2018). Je tedy důležité, aby nedocházelo k abnormalitám v metabolismu, které by mohly negativně ovlivnit kardioprotekci.

6.2 Fibroblastový růstový faktor 21 (FGF21)

V BAT dochází k syntéze batokinů, což jsou signální molekuly, které mají endokrinní vlastnosti. Jedním z nich je růstový faktor fibroblastů 21 (FGF21), který se také syntetizuje ve WAT, nově v srdci, ale zejména v játrech a jeho exprese je řízena PPAR α (Badman *et al.*, 2007; Planavila *et al.*, 2015b). Rolí FGF21 je podíl na kontrole energetické homeostázy, homeostázy glukózy a lipidů. Vazbou FGF21 na tyrosin kinázové receptory fibroblastového růstového faktoru (FGFR) a kofaktor β -Klotho dochází k aktivaci signálních kaskád a tím ovlivnění genové exprese (Fisher and Maratos-Flier, 2016). K produkci FGF21 v BAT je nezbytná aktivace této tkáně, ke které dochází po expozici chladu nebo fyzické aktivitě (Hondares et al. 2011; Cuevas-Ramos et al. 2019). FGF21 může ovlivnit i míru netřesové termogeneze tím, že zvyšuje podíl UCP1 v BAT (Fisher and Maratos-Flier, 2016).

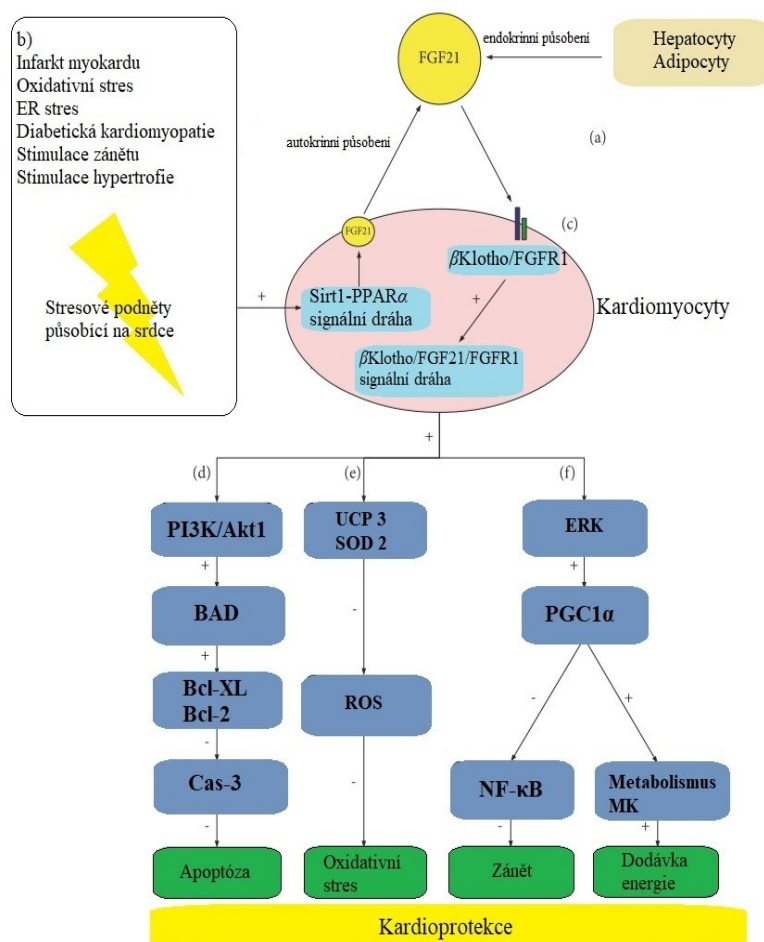
6.2.1. Kardioprotektivní účinky UCP a FGF21

Práce Planavily a kolektivu (Planavila et al., 2013) ukázala, že k syntéze FGF21 dochází v kardiomyocytech, kde se zároveň nachází i příslušné receptory, jako je receptor

fibroblastového růstového faktor 1 a 4 (FGFR1 a FGFR4) a kofaktor β -Klotho. Molekuly FGF21 působí anti-hypertrofně (Planavila et al., 2013) a kardioprotektivně u myší s infarktem myokardu tím, že inhibuje apoptózu kardiomyocytů (Liu et al., 2013). Mechanismus, který reguluje transkripci FGF21 v srdci zahrnuje sirtuin1-PPAR α dráhu, která může být aktivována stresovými podněty, které působí na srdce (viz obr. č. 8) (Olejnik et al., 2018; Planavila et al., 2013, 2015b). Srdce s deficientní deacetylázou sirtuinem 1 (Sirt1) vykazuje morfologické a funkční abnormality, jelikož má nepostradatelnou roli při udržování mitochondriální integrity a při postnatálním vývoji myokardu (Chen et al., 2016).

Na vyšším modelu s indukovanou hypertrofií, které bylo docíleno aplikací isoproterenolu bylo možné pozorovat zvětšení srdce a objemu kardiomyocytů. Oproti WT jedincům byla změna ve velikosti srdce v případě FGF21 deficientních jedinců (FGF21^{-/-}) výrazná. Tomuto jevu lze zabránit léčbou FGF21, která také zvyšuje oxidaci MK a zabraňuje indukci prozánětlivých cest. Aplikace isoproterenolu v případě FGF21^{-/-} jedinců rovněž způsobuje pokles exprese PGC-1 α , který je zapojený do regulace energetického metabolismu srdce (Aubert et al., 2013; Planavila et al., 2013), nárůst prozánětlivého interleukinu-6 a monocytového chemoatraktantového proteinu-1 a zvýšenou aktivitu faktoru NF- κ B (Planavila et al., 2013). Což poukazuje na roli FGF21 v protekci srdce před zánětem a hypertrofií.

V dalších studiích bylo poukázáno na to, že pomocí FGF21 dochází k inhibici apoptózy kardiomyocytů (viz. obr. č. 7), což působí protektivně po prodělání infarktu myokardu (Liu et al., 2013). Kardioprotektivní účinky v průběhu I/R jsou zapříčiněné zvýšenou regulací FGF21, kdy dochází k jeho vyplavení z jater a tukové tkáně do krevního řečiště. FGF21 interaguje s FGFR1 a β -Klotho, čímž se docílí aktivace PI3K, proteinkinázy B (Akt1) a fosforylace antagonisty buněčné smrti Bcl-2 (BAD). V defosforylovaném stavu BAD způsobí oddělení anti-apoptotických proteinů Bcl-2 a Bcl-xL a pro-apoptotické proteiny Bax a Bak tak nabírají na aktivitě (Aoyagi and Matsui, 2011; Datta et al., 2002; Yang et al., 1995). Fosforylace BAD tedy vede ke snížení míry apoptózy a tudíž k protekci kardiomyocytů (Aoyagi and Matsui, 2011; Datta et al., 2002; Hausenloy and Yellon, 2009). Liu se svým týmem (Liu et al., 2013) tedy navrhuje, že kardioprotektivní účinky jsou zapříčiněny signální kaskádou FGF21-FGFR1/ β -Klotho-PI3K+Akt1 a fosforylací BAD (viz obr. č. 8).



Obrázek č. 8: Schéma působení FGF21 v kardioprotekci. FGF21 produkované v hepatocytech a erytrocytech se váží na β -Klotho/FGF21 a spouští tak signální dráhy zodpovědné za protekci srdce. Množství produkovaného FGF21 je ovlivňováno několika druhy stresu (b), které spouští Sirt1-PPAR α dráhu. Jednou z variant kardioprotekce je inhibice apoptózy (d), kdy aktivací PI3K/Akt1 cesty dojde k fosforylaci BAD, který způsobí inhibici Cas-3 a tudíž i apoptózy. Další cestou je regulace genové exprese SOD2 a UCP3 (e), které působí jako antioxidanty a redukují tak působení oxidativního stresu na srdce. Třetí cesta aktivovaná skrze FGF21 vede přes ERK (f), kdy působením transkripčního koaktivátoru PGC1- α dochází k potlačení exprese prozánětlivého faktoru NF- κ B a následnému rozvoji zánětlivého procesu. PGC1- α také ovlivňuje metabolismus mastných kyselin, což vede k většímu přísunu energie do srdce (upraveno podle z Olejnik et al., 2018).

V již dříve zmiňované práci Thoonena a kolektivu (Thoonen et al., 2015), kdy došlo k srdečnímu poškození indukovanými katecholaminy, byla v LV po infuzi isoproterenolu pozorována mírná fosforylace AKT a proteinkinázy regulovanou extracelulárním signálem 1/2 (ERK1/2). Výsledky poukázaly na to, že signalizace skrze AKT u UCP1-/- jedinců byla snižena a v případě ERK1/2 nedošlo ani k aktivaci této signální dráhy. Zatímco u WT byla signalizace skrz AKT stejná a v případě ERK1/2 dokonce zvýšená. Aktivace AKT přispěla k 64 % redukci velikosti infarktu, z 84 % redukovala apoptózu buněk a vedla k zachování funkce hypoxických kardiomyocytů na úrovni srovnatelné s normoxickými (Aoyagi and Matsui, 2011).

Na patogenezi srdečního selhání se také podílí oxidativní stres a k jeho redukci přispívá FGF21 tím, že indukuje zvýšení exprese genů kódujících UCP3 a superoxid dismutázy 2 (SOD2), což potvrzuje snížená exprese těchto genů u FGF21 deficitních myší (FGF21-/-) a s tím asociovaná zvýšená míra apoptózy. U pacientů se srdečním selháním dochází k nárůstu FGF21 (Planavila et al., 2015a) a mitochondriální dysfunkce a stres vede až k třistanásobnému zvýšení exprese FGF21 v srdcích myší (Dogan et al., 2014). Regulace FGF21 asociovaná se změnami v UCP3 by tedy mohla být jednou z cest v protekci srdce.

Kardioprotektivní role UCP3 v srdci, kde by mělo plnit funkci antioxidantu má své příznivce, ale i odpůrce. Proti tomuto tvrzení svědčí to, že mezi zvýšenou expresí UCP3 a redukovanými ROS nebyla pozorována korelace (Hilse et al., 2018), tudíž se nepředpokládá, že by ovlivňoval jejich produkci, ale jiné studie tvrdí opak (Nègre-Salvayre et al., 1997; Vidal-Puig et al., 2000). U myších jedinců, kteří UCP3 postrádali (UCP3^{-/-}), došlo k nárůstu mitochondriálních ROS (Vidal-Puig et al., 2000). Další práce poukázala na fakt, že i v případě inhibice UCP2 je možné pozorovat nárůst hodnot peroxidu vodíku, ze kterého vzniká hydroxylový radikál HO[•] (Nègre-Salvayre et al., 1997). Zvýšení exprese jak UCP2 tak UCP3 lze docílit i ischemickou prekondíci (McLeod et al., 2005), při které několikrát dochází ke krátkému přerušení prokrvení srdce před samotným I/R (Murry et al., 1986).

7. UCP a kardiovaskulární onemocnění

7.1 Srdeční selhání

K srdečnímu selhání dochází v případě oslabení srdečního svalu, které je způsobeno nedostatečným zásobením krví, strukturální a funkční změnou, poruchou v rytmu a schopnosti vést vzruch (Murray and Pfeffer, 2016). S poklesem hladiny TH (Gerdes and Iervasi, 2010) a se změnami v jejich signalizaci způsobených pozměněnou expresí příslušných receptorů (Kinugawa et al., 2001) je asociováno srdeční selhání (HF). UCP jsou spojovány s redukcí oxidativního stresu, který je jedním z rizikových faktorů pro rozvoj kardiovaskulárních onemocnění a doprovází HF.

Jak už bylo řečeno, k nárůstu UCP2 dochází v případě léčby TH nebo nadměrnou expresí β -adrenergických receptorů (Degens et al., 2003; Gaussin et al., 2003). V případě kardiomyopatie, které byla způsobena aplikací doxorubicinu (cytostatikum, které působí toxicky na myokard) došlo ke snížení UCP2 (Hao et al., 2015), které je možné pozorovat i v případě zvířecích modelů a pacientů s HF (Laskowski and Russell III, 2008), tudíž by opačný efekt, nadměrná exprese, mohl vést ke snížení míry HF. Pozitivní vliv nadměrné exprese UCP2 na HF popsali ve své práci Turner a kolektiv (Turner et al., 2010), kdy docházelo ke snížení membránového potenciálu a redukcí ROS. Zároveň ale poukázali na to, že bylo možné pozorovat poruchu v excitaci a kontrakci buněk, což může ovlivnit kontraktilní funkci srdce a působit arytmogenně, a to bez významného ovlivnění celkové hladiny buněčného ATP.

HF je charakteristické nárůstem NA (Thomas and Marks, 1978) a s tím asociovanou lipolýzou a zvýšenou koncentrací volných mastných kyselin (FFA) (Paolisso et al., 1994). Jedním z projevů HF je energetická nedostatečnost projevující se jako abnormální fosfátový

metabolismus, který se měří jako poměr fosfokreatinu a ATP (PCr/ATP), který je v případě HF abnormálně nízký (Neubauer *et al.*, 1997) a u diabetických jedinců je nízký poměr PCr/ATP asociován se zvýšeným množstvím FFA (Scheuermann-Freestone *et al.*, 2003).

V práci Murraye a kolektivu (Murray *et al.*, 2008) se věnovali otázce, zda nárůst FFA a následné zvýšení koncentrace UCP3 způsobí snížení energetického metabolismu v průběhu HF. V infarktovaném selhávajícím potkaním srdci došlo po 10 týdnech k 53 % nárůstu UCP3. Zatímco srdce, které si prošlo infarktem, ale nebylo u něj pozorované následné srdeční selhání, mělo naměřené hodnoty UCP3 stejné, jako kontrolní jedinci. Bylo možné pozorovat korelaci UCP3 s plazmatickými hladinami FFA, jejichž koncentrace byla oproti normálu 1,6x větší v případě infarktovaných jedinců bez HF srdce a 2,8x větší v případě infarktovaných jedinců s následným HF srdce. Zvýšená koncentrace UCP, která byla indukovaná vyšším množstvím FFA, vedla ke snížení energetické výkonnosti, jelikož došlo k odpřažení oxidativní fosforylace a tím pádem k nižší produkci ATP.

Degens a kolektiv (Degens *et al.*, 2003) ve své práci sledovali dlouhodobý účinek TH na funkci srdce a jeho metabolismus v případě HF. Po 28 dnech léčby TH došlo k progresivní hypertrofii srdce o 47 %, což mělo z prvopočátku prospěšný účinek na zlepšení srdeční funkce. Z dlouhodobého hlediska ale léčba TH měla spíše opačný efekt. Bylo možné pozorovat zvýšenou expresi mRNA UCP2 a UCP3, což mohlo tvořit překážku v tvorbě energie a způsobit nárůst atriálního natriuretického faktoru v levé komoře (LV), který je jedním z ukazatelů srdečního selhání. Tyto dvě změny byly asociované se zhoršenou ejekční frakcí LV. Studie Shorta a kolektivu (Short *et al.*, 2001) však vyvrací předešlé tvrzení, jelikož v jejich práci bylo možné u hypertyroidních hlodavců, i přes zvýšené hodnoty UCP2 a UCP3, pozorovat nárůst ATP v srdci, kosterních svalech a játrech.

K rozvoji HF přispívá i vysoký krevní tlak, nebo-li hypertenze (Messerli *et al.*, 2017). Stravou s vysokým obsahem solí lze docílit hypertenze a disfunkce vaskulárního systému a v případě odstranění UCP2 je pak možné pozorovat ještě větší míru zmíněné hypertenze a vaskulární disfunkce. Delece UCP2 vedla i k vyšší produkci superoxidu, který má negativní vliv na dostupnost oxidu dusnatého, což vede k další progresi hypertenze, jelikož nastane porucha ve vazodilataci (Ma *et al.*, 2010).

Při prodělání HF srdce podléhá energetickému stresu, a tudíž je důležité, aby v jeho průběhu docházelo k vyšší tvorbě ATP, tudíž by zvýšená koncentrace UCP nebyla výhodná. Naopak zvýšení koncentrace UCP vede k redukci RO a je tudíž je sporné, jestli je v průběhu HF vhodná indukce nebo inhibice exprese UCP.

7.2 Ateroskleróza

Aterosklerózu můžeme charakterizovat jako chronické zánětlivé onemocnění cévních stěn, při kterém dochází ke tvorbě aterosklerotických plátů. K jejich vzniku dochází hromaděním lipoproteinů (cholesterolu) a jejich interakcí s buňkami imunitního systému (makrofágy, T-buňkami), hladké svaloviny a arteriální intimy. Pláty v případě ruptury způsobí trombózu, která vede k infarktu myokardu a mozkové mrtvici (Blanc et al., 2003; Lusis, 2010). Na aterogenezi se podílí oxidované nízkodenní lipoproteiny (LDL) a ROS, které mohou již vzniklý komplex plátů poškodit, což má za následek jejich progresi (Glass and Witztum, 2001).

V práci Blanca a kolektivu (Blanc et al., 2003) se věnovali otázce, zda generace ROS závislá na UCP2 může mít vliv na rozvoj aterosklerózy. Transplantací kostní dřeně pocházející od WT nebo UCP2^{-/-} do jedinců s deficientním LDL receptorem, který se podílí na udržení správné hladiny LDL, se snažili určit roli UCP2. Jedincům byla po dobu 7 týdnů podávána aterogenní strava, která obsahovala 15 % tuků, 1,25 % cholesterolu a 0 % cholátu, a následně byly pozorovány hodnoty cholesterolu a velikost aterosklerotických plátů. Došli k tomu, že v případě UCP2^{-/-} jedinců byly aterosklerotické pláty ve Valsalvově sinu o 42 % rozsáhlejší než u WT jedinců, v případě hrudní aorty až o 92 %. Vyšší procentuální zastoupení makrofágů v případě deficientních jedinců naznačovalo zesílenou zánětlivou odpověď. V případě UCP2^{-/-} myši byl pozorován silný nárůst nitrotyrosinu, jakožto jednoho z ROS a zároveň u těchto jedinců byla zvýšená míra apoptózy, což může mít za následek zvětšení aterosklerotického plátu a vyšší riziko trombogenicity. V případě absence UCP2 a deficitu LDL docházelo k nárůstu ROS, které se podílejí na tvorbě a rozvoji aterosklerózy.

K průchodů monocytů do subendotelového prostoru je za potřebí integrinů, které rozeznávají adhezní molekuly. Na povrchu monocytů je exprimován chemoatraktantní receptor 2 (CCR2), kdy po navázání monocytárního chemoatraktivního proteinu 1 (MCP-1) dochází k adhezi zprostředkované β -integrinem, průchodu monocytů skrze vaskulární endotel a k následné maturaci v makrofágy (Ryu et al., 2004). Ryu a kolektiv (Ryu et al., 2004) se ve své práci věnovali vlivu zvýšené exprese UCP2 na β -integriny a CCR2. Tato změna vedla ke snížení exprese β_2 -integrinu na povrchu monocytů, nejvíce byl ovlivněn β_2 -integrin CD11b. Receptor CCR2 byl méně exprimován a jeho ligand MCP-1 měl menší adhezi na TNF- α stimulované aortální endoteliální buňky. Vyšší podíl UCP2 vedl k redukci ROS, které vznikaly v reakci na peroxid vodíku, TNF- α a MCP-1 a zároveň k redukci integrinu CD11b o 75-80 % (Han et al., 2003; Ryu et al., 2004).

Zvýšená exprese UCP2 může tedy regulovat formování aterosklerotických plátů, produkci ROS a fungovat tak antiaterogenně a mít příznivý vliv na kardiovaskulární systém.

9. Závěr

V patofyziologii srdce zaujímají ROS významnou roli, a tudíž má jejich redukce významný vliv v kardioprotekci. V této práci bylo poukázáno na to, že UCP jsou schopné redukce ROS a mohou se jevit jako jedna z cest v prevenci a léčbě CVD.

Bylo poukázáno, že UCP1, který je exprimován v EFT, má vliv na snížení tvorby ROS a produkci tepla, což chrání srdce v průběhu hypotermie. EFT zároveň produkuje cytokin adiponektin, který přispívá k protekci srdce. V případě EFT je ale důležité udržet balanc v jejím působení, jelikož je asociovaná i s patofyziologickými stavy srdce. Transplantace BAT, ve které je vysoce exprimován UCP1 se jeví jako účinná cesta v protekci srdce v průběhu kardiomyopatie indukované katecholaminy a má také příznivý vliv na glukózovou homeostázu, kdy její poruchy vedou k oxidativnímu stresu. Pokud by šel takový kardioprotektivní účinek rozšířit i na jiné modely srdečního selhání, aktivace nebo transplantace BAT může být slibnou terapeutickou cestou. Ovlivnění membránového potenciálu, s tím asociovaná redukce ROS a prevence hromadění Ca^{2+} prostřednictvím UCP2 a UCP3 má za výsledek inhibici otevírání MPTP, a tudíž i apoptózy. Redukce ROS je zprostředkována i působením FGF21, který aktivuje UCP3 a SOD2. Aktivita FGF21 zároveň vede k inhibici zánětlivé odpovědi a apoptózy a má kladný efekt na zvýšení energetického zásobování srdce. Ve formování aterosklerotických plátů je důležitá funkce UCP2, který redukuje tvorbu ROS, míru apoptózy a také podíl integrinů, které jsou důležité k průchodu monocytů skrze vaskulární endotel. Zvýšená exprese UCP asociovaná se sníženou hladinou ROS ale nemusí mít vždy pouze kladný efekt na protekci srdce. Mohou také negativně ovlivnit kalciový rytmus srdce a působit tak arytmogenně. Zároveň při vyšší koncentraci UCP můžeme pozorovat sníženou tvorbu energie, která je však důležitá pro správnou funkci srdce. UCP může regulovat transport MK do mezimembránového prostoru, což je prospěšné při vyšší dodávce MK. Zvýšená koncentrace MK v matrix totiž působí toxicky. V modulaci UCP zaujímají roli TH, které jsou důležité pro správnou funkci kardiovaskulárního systému. TH dokážou působením na transkripční faktory ovlivnit množství UCP a AR, a tudíž amplifikovat jejich funkci. Vystavení chladu, díky kterému dochází k aktivaci BAT a následnému nárůstu v produkci FGF21 a UCP, by tedy mohlo zaujímat roli v modulaci jejich účinků v kardioprotekci.

Výzkum role UCP v kontextu kardioprotekce budí v posledních letech větší zájem. Jejich role v působení na rizikové faktory v rozvoji CVD, zejména ROS, se jeví jako slibná terapeutická cesta v protekci srdce a bylo by přínosné pokračovat v jejich zkoumání.

10. Použitá literatura

Alán, L., Smolková, K., Kronusová, E., Šantorová, J. and Ježek, P. (2019) "Absolute levels of transcripts for mitochondrial uncoupling proteins UCP2, UCP3, UCP4, and UCP5 show different patterns in rat and mice tissues." *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 41, 71-78

Amber-Vitos, O., Chaturvedi, N., Nachliel, E., Gutman, M. and Tsfadia, Y. (2016). "The Effect of Regulating Molecules on the Structure of the PPAR-RXR Complex." *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1861, 1852–1863.

Aoyagi, T. and Matsui, T. (2011). "Phosphoinositide-3 kinase Signaling in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure." *Current Pharmaceutical Design* 17, 1818–1824.

Asano, A., Morimatsu, M., Nikami, H., Yoshida, T. and Saito, M. (1997). "Adrenergic Activation of Vascular Endothelial Growth Factor mRNA Expression in Rat Brown Adipose Tissue: Implication in Cold-Induced Angiogenesis." *Biochemical Journal* 328, 179–183.

Aubert, G., Vega, R.B. and Kelly, D.P. (2013). "Perturbations in the gene regulatory pathways controlling mitochondrial energy production in the failing heart." *Biochimica et Biophysica Acta* 1833, 840–847.

Badman, M.K., Pissios, P., Kennedy, A.R., Koukos, G., Flier, J.S. and Maratos-Flier, E. (2007). "Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPARalpha and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states." *Cell Metabolism* 5, 426–437.

Baker, A.J. (2014). "Adrenergic Signaling in Heart Failure: a Balance of Toxic and Protective Effects." *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 466, 1139–1150.

Balaban, R.S. (2012). "Metabolic Homeostasis of the Heart." *Journal of General Physiology* 139, 407–414.

Benjamin, E.J., Paul Muntner, C., Chair Alvaro Alonso, V., Marcio Bittencourt, F.S., Clifton Callaway, M.W., April Carson, F.P., Alanna Chamberlain, F.M., Chang, A.R., Susan Cheng, M., Sandeep Das, F.R., ... Elect, C. (2019). "WRITING GROUP MEMBERS On behalf of the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee *Circulation* 139, 56–528.

Benjamin, I.J., Jalil, J.E., Tan, L.B., Cho, K., Weber, K.T. and Clark, W.A. (1989). "Isoproterenol-Induced Myocardial Fibrosis in Relation to Myocyte Necrosis." *Circulation Research* 65, 657–670.

*Bernardo, B.C., Weeks, K.L., Pretorius, L. and McMullen, J.R. (2010). "Molecular Distinction Between Physiological and Pathological Cardiac Hypertrophy: Experimental Findings and Therapeutic Strategies." *Pharmacology and Therapeutics* 128, 191–227.

****Berthiaume, J.M., Kirk, J.A., Ranek, M.J., Lyon, R.C., Sheikh, F., Jensen, B.C., Hoit, B.D., Butany, J., Tolend, M., Rao, V. and Willis, M.S. (2016). Pathophysiology of Heart Failure and an Overview of Therapies. In Cardiovascular Pathology: Fourth Edition, (Elsevier Inc.), pp. 271–339.**

Bianco, A.C. and Silva, J.E. (1987). "Intracellular Conversion of Thyroxine to Triiodothyronine is Required for the Optimal Thermogenic Function of Brown Adipose Tissue." *The Journal of Clinical Investigation* 79, 295–300.

Bilezikian, J.P., Loeb, J.N. and Gammon, D.E. (1979). "The Influence of Hyperthyroidism and Hypothyroidism on the β -adrenergic Responsiveness of the Turkey Erythrocyte." *Journal of Clinical Investigation* 63, 184–192.

Blanc, J., Alves-Guerra, M.C., Esposito, B., Rousset, S., Gourdy, P., Ricquier, D., Tedgui, A., Miroux, B. and Mallat, Z. (2003). "Protective Role of Uncoupling Protein 2 in Atherosclerosis." *Circulation* 107, 388–390.

Bordicchia, M., Liu, D., Amri, E.-Z., Ailhaud, G., Dessì-Fulgheri, P., Zhang, C., Takahashi, N., Sarzani, R. and Collins, S. (2012). "Cardiac Natriuretic Peptides act via p38 MAPK to Induce the Brown Fat Thermogenic Program in Mouse and Human Adipocytes." *The Journal of Clinical Investigation* 122, 1022–1036.

Boss, O., Samec, S., Paoloni-Giacobino, A., Rossier, C., Dulloo, A., Seydoux, J., Muzzin, P. and Giacobino, J.-P. (1997a). "Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression." *FEBS Letters* 408, 39–42.

Boss, O., Samec, S., Dulloo, A., Seydoux, J., Muzzin, P. and Giacobino, J.P. (1997b). "Tissue-dependent upregulation of rat uncoupling protein-2 expression in response to fasting or cold." *FEBS Letters* 412, 111–114.

Boudina, S., Han, Y.H., Pei, S., Tidwell, T.J., Henrie, B., Tuinei, J., Olsen, C., Sena, S. and Abel, E.D. (2012). "UCP3 Regulates Cardiac Efficiency and Mitochondrial Coupling in High Fat-Fed Mice but not in Leptin-Deficient Mice." *Diabetes* 61, 3260–3269.

Braissant, O., Foulle, F., Scotto, C., Dauça, M. and Wahli, W. (1996). "Differential Expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): Tissue Distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the Adult Rat." *Endocrinology* 137, 354–366.

Busiello, R.A., Savarese, S. and Lombardi, A. (2015). "Mitochondrial Uncoupling Proteins and Energy Metabolism." *Frontiers in Physiology* 6, 36.

Cechi, K., Voisine, P., Mathieu, P., Laplante, M., Bonnet, S., Picard, F., Joubert, P. and Richard, D. (2017). "Functional Characterization of the Ucp1-Associated Oxidative Phenotype of Human Epicardial Adipose Tissue." *Scientific Reports* 7:15566.

Cechi, K., Vijay, J., Voisine, P., Mathieu, P., Bossé, Y., Tchernof, A., Grundberg, E. and Richard, D. (2019). "UCP1 Expression-Associated Gene Signatures of Human Epicardial Adipose Tissue." *JCL Insight* 4, 1–14.

- Chen, G.-G., Yan, J.-B., Wang, X.-M., Zheng, M.-Z., Jiang, J.-P., Zhou, X.-M., Cai, B., Shen, Y.-L., Jiang, J., Jiang, J., Zhou, X., Zhou, X., Cai, B., Cai, B., Shen, Y. and Shen, Y. (2016). "Mechanism of uncoupling protein 2-mediated myocardial injury in hypothermic preserved rat hearts." *Molecular Medicine Reports* 14, 1857–1864.
- Chen, Y., Liu, J., Zheng, Y., Wang, J., Wang, Z., Gu, S., Tan, J., Jing, Q. and Yang, H. (2015). "Uncoupling Protein 3 Mediates H₂O₂ Preconditioning-Afforded Cardioprotection Through the Inhibition of MPTP Opening." *Cardiovascular Research* 105, 192–202.
- Cheng, S.-Y., Leonard, J.L. and Davis, P.J. (2010). "Molecular Aspects of Thyroid Hormone Actions." *Endocrine Reviews* 31, 139–170.
- Chondronikola, M., Volpi, E., Børshiem, E., Porter, C., Annamalai, P., Enerbäck, S., Lidell, M.E., Saraf, M.K., Labbe, S.M., Hurren, N.M., Yfanti, C., Chao, T., Andersen, C.R., Cesani, F., Hawkins, H. and Sidossis, L.S. (2014). "Brown Adipose Tissue Improves Whole-Body Glucose Homeostasis and Insulin Sensitivity in Humans." *Diabetes* 63, 4089–4099.
- Cioffi, F., Gentile, A., Silvestri, E., Goglia, F. and Lombardi, A. (2018). "Effect of Iodothyronines on Thermogenesis: Focus on Brown Adipose Tissue." *Frontiers in Endocrinology* 9, 1–7.
- Collin, A., Cassy, S., Buyse, J., Decuypere, E. and Damon, M. (2005). "Potential Involvement of Mammalian and Avian Uncoupling Proteins in the Thermogenic Effect of Thyroid Hormones." *Domestic Animal Endocrinology* 29, 78–87.
- Croteau, W., Davey, J.C., Anne Galton, V. and St Germain, D.L. (1996). "Cloning of the Mammalian Type II Iodothyronine Deiodinase. A Selenoprotein Differentially Expressed and Regulated in Human and Rat Brain and Other Tissues." *J. Clin. Invest* 98, 405–417.
- Datta, S.R., Ranger, A.M., Lin, M.Z., Sturgill, J.F., Ma, Y.-C., Cowan, C.W., Dikkes, P., Korsmeyer, S.J. and Greenberg, M.E. (2002). "Survival Factor-mediated BAD Phosphorylation Raises the Mitochondrial Threshold for Apoptosis." *Developmental Cell* 3, 631–643.
- Degens, H., Gilde, A.J., Lindhout, M., Willemsen, P.H.M., Van Der Vusse, G.J. and Van Bilsen, M. (2003). "Functional and Metabolic Adaptation of the Heart to Prolonged Thyroid Hormone Treatment." *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 284, 108–115.
- Dogan, S.A., Pujol, C., Maiti, P., Kukat, A., Wang, S., Hermans, S., Senft, K., Wibom, R., Rugarli, E.I. and Trifunovic, A. (2014). "Tissue-Specific Loss of DARS2 Activates Stress Responses Independently of Respiratory Chain Deficiency in the Heart." *Cell Metabolism* 19, 458–469.
- Duncan, J.G. (2011). "Peroxisome Proliferator Activated Receptor-alpha (PPAR α) and PPAR gamma Coactivator-1alpha (PGC-1 α) Regulation of Cardiac Metabolism in Diabetes." *Pediatric Cardiology* 32, 323–328.
- Dupré-Crochet, S., Erard, M. and Nüße, O. (2013). "ROS Production in Phagocytes: Why, When, and Where?" *Journal of Leukocyte Biology* 94, 657–670.

Echtay, K.S. (2007). "Mitochondrial uncoupling proteins—What is their physiological role?" *Free Radical Biology and Medicine* 43, 1351–1371.

*Fazio, S., Palmieri, E.A., Lombardi, G. and Biondi, B. (2004). "Effects of Thyroid Hormone on the Cardiovascular System." *Recent progress in hormone research* 59, 31–50.

Fillmore, N., Mori, J. and Lopaschuk, G.D. (2014). "Mitochondrial Fatty Acid Oxidation Alterations in Heart Failure, Ischaemic Heart Disease and Diabetic Cardiomyopathy." *British Journal of Pharmacology* 171, 2080–2090.

Finck, B.N., Lehman, J.J., Leone, T.C., Welch, M.J., Bennett, M.J., Kovacs, A., Han, X., Gross, R.W., Kozak, R., Lopaschuk, G.D. and Kelly, D.P. (2002). "The Cardiac Phenotype Induced by PPAR α Overexpression Mimics that Caused by Diabetes Mellitus." *Journal of Clinical Investigation* 109, 121–130.

Fisher, F.M. and Maratos-Flier, E. (2016). "Understanding the Physiology of FGF21." *Annual Review of Physiology* 78, 223–241.

Fisher, R.P., Lisowsky, T., Parisil, M.A. and Clayton, D.A. (1992). "DNA Wrapping and Bending by a Mitochondrial High Mobility Group-like Transcriptional Activator Protein." *The Journal of Biological Chemistry* 267, 3358–3367.

Fleury, C. and Sanchis, D. (1999). "The mitochondrial uncoupling protein-2: Current status." *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 31, 1261–1278.

Fleury, C., Neverova, M., Collins, S., Raimbault, S., Champigny, O., Levi-Meyrueis, C., Bouillaud, F., Seldin, M.F., Surwit, R.S., Ricquier, D. and Warden, C.H. (1997). "Uncoupling Protein-2: A Novel Gene Linked to Obesity and Hyperinsulinemia." *Nature Genetics* 15, 269–272.

*Friedman, J.R., and Nunnari, J. (2014). Mitochondrial form and function. *Nature* 505, 335–343.

Frisch, S.M. (1999). "Evidence for a Function of Death-Receptor-Related, Death-Domain-Containing Proteins in Anoikis." *Current Biology* 9, 1047–1049.

Fukuyama, K., Ichiki, T., Takeda, K., Tokunou, T., Iino, N., Masuda, S., Ishibashi, M., Egashira, K., Shimokawa, H., Hirano, K., Kanaide, H. and Takeshita, A. (2003). "Downregulation of vVascular Angiotensin II Type 1 Receptor by Thyroid Hormone." *Hypertension* 41, 598–603.

Garlid, K.D., Jaburek, M. and Jezek, P. (2001). "Mechanism of uncoupling protein action." *Biochemical Society Transactions* 29, 803–806.

Gaussin, V., Tomlinson, J.E., Depre, C., Engelhardt, S., Antos, C.L., Takagi, G., Lutz, H., Topper, J.N., Liggett, S.B., Olson, E.N., Lohse, M.J., Vatner, S.F. and Vatner, D.E. (2003). "Common Genomic Response in Different Mouse Models of-Adrenergic-Induced Cardiomyopathy." *Circulation* 108, 2926–2933.

Gerdes, A.M. and Iervasi, G. (2010). "Thyroid Replacement Therapy and Heart Failure." *Circulation* 122, 385–393.

Gilde, A.J., van der Lee, K.A.J.M., Willemsen, P.H.M., Chinetti, G., van der Leij, F.R., van der Vusse, G.J., Staels, B. and van Bilsen, M. (2003). "Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) α and PPAR β/δ , but not PPAR γ , Modulate the Expression of Genes Involved in Cardiac Lipid Metabolism." *Circulation Research* 92, 518–524.

Glass, C.K. and Witztum, J.L. (2001). "Atherosclerosis. The Road Ahead." *Cell* 104, 503–516.

Griendling, K.K. and FitzGerald, G.A. (2003). "Oxidative Stress and Cardiovascular Injury Part I: Basic Mechanisms and In Vivo Monitoring of ROS." *Circulation* 108, 1912–1916.

von Hafe, M., Neves, J.S., Vale, C., Borges-Canha, M. and Leite-Moreira, A. (2019). "The Impact of Thyroid Hormone Dysfunction on Ischemic Heart Disease." *Endocrine Connections* 8, 76–90.

Han, K.H., Chen, Y., Chang, M.K., Han, Y.C., Park, J.-H., Green, S.R., Boullier, A. and Quehenberger, O. (2003). "LDL Activates Signaling Pathways Leading to an Increase in Cytosolic Free Calcium and Stimulation of CD11b Expression in Monocytes." *Journal of Lipid Research* 44, 1332–1340.

Hao, E., Mukhopadhyay, P., Cao, Z., Erdélyi, K., Holovac, E., Liaudet, L., Lee, W.S., Haskó, G., Mechoulam, R. and Pacher, P. (2015). "Cannabidiol Protects Against Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy by Modulating Mitochondrial Function and Biogenesis." *Molecular Medicine* 21, 38–45.

Harrison, T.S. (1964). "Adrenal Medullary and Thyroid Relationships." *Physiological Reviews* 44, 161–185.

Hausenloy, D.J. and Yellon, D.M. (2009). "Cardioprotective Growth Factors." *Cardiovascular Research* 83, 179–194.

Hayden, M.S. and Ghosh, S. (2008). "Shared Principles in NF- κ B Signaling." *Cell* 132, 344–362.

Hernandez, A., Martinez, M.E., Fiering, S., Galton, V.A. and St Germain, D. (2006). "Type 3 deiodinase is critical for the maturation and function of the thyroid axis." *The Journal of Clinical Investigation* 116, 476–484.

Hernández, A. and Obregón, M.J. (2000). "Triiodothyronine Amplifies the Adrenergic Stimulation of Uncoupling Protein Expression in Rat Brown Adipocytes." *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 278, 769–777

Hilse, K.E., Rupprecht, A., Egerbacher, M., Bardakji, S., Zimmermann, L., Wulczyn, A.E.M.S. and Pohl, E.E. (2018). "The Expression of Uncoupling Protein 3 Coincides with the Fatty Acid Oxidation Type of Metabolism in Adult Murine Heart." *Frontiers in Physiology* 9:747.

Holm, C., Osterlund, T., Laurell, H. and Contreras, A.J. (2002). "Molecular Mechanisms Regulating Hormone-Sensitive Lipase and Lipolysis." *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 3, 199–242.

Hondares, E., Rosell, M., Díaz-Delfín, J., Olmos, Y., Monsalve, M., Iglesias, R., Villarroya, F. and Giralt, M. (2011). "Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) induces PPAR γ coactivator 1 α (PGC-1 α) gene expression and contributes to thermogenic activation of brown fat: involvement of PRDM16." *The Journal of Biological Chemistry* 286, 43112–43122.

Iacobellis, G., Ribaldo, M.C., Assael, F., Vecchi, E., Tiberti, C., Zappaterreno, A., Di Mario, U. and Leonetti, F. (2003). "Echocardiographic Epicardial Adipose Tissue Is Related to Anthropometric and Clinical Parameters of Metabolic Syndrome: A New Indicator of Cardiovascular Risk." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88, 5163–5168..

Ježek, P. and Garlid, K.D. (1998). "Mammalian Mitochondrial Uncoupling Proteins." *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 30, 1163–1168.

Kim, B., Carvalho-Bianco, S.D. and Larsen, P.R. (2005). "Thyroid hormone and adrenergic signaling in the heart." *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia* 48, 171–175.

Kinugawa, K., Minobe, W.A., Wood, W.M., Ridgway, E.C., Baxter, J.D., Ribeiro, R.C.J., Tawadrous, M.F., Lowes, B.A., Long, C.S. and Bristow, M.R. (2001). "Signaling Pathways Responsible for Fetal Gene Induction in the Failing Human Heart." *Circulation* 103, 1089–1094.

Klingenberg, M. (1999). "Uncoupling Protein - A Useful Energy Dissipator." *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 31, 419–430.

Klingenberg, M. and Echtay, K.S. (2001). "Uncoupling proteins: the issues from a biochemist point of view." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1504, 128–143.

Krauss, S., Zhang, C.Y. and Lowell, B.B. (2005). "The mitochondrial uncoupling-protein homologues." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6, 248–261.

Lanni, A., De Felice, M., Lombardi, A., Moreno, M., Fleury, C., Ricquier, D. and Goglia, F. (1997). "Induction of UCP2 mRNA by Thyroid Hormones in Rat Heart." *FEBS Letters* 418, 171–174.

Lanni, A., Moreno, M., Lombardi, A. and Goglia, F. (2003). "Thyroid Hormone and Uncoupling Proteins." *FEBS Letters* 543, 5–10.

Laskowski, K.R. and Russell III, R.R. (2008). "Uncoupling Proteins in Heart Failure." *Current Heart Failure Reports* 5, 75–79.

Latham, K.R., Ring, J.C. and Baxter, J.D. (1976). "Solubilized Nuclear “Receptors” for Thyroid Hormones. Physical Characteristics and Binding Properties, Evidence for Multiple Forms." *Journal of Biological Chemistry* 251, 7388–7397.

Ledesma, A., García De Lacoba, M. and Rial, E. (2002). "The mitochondrial uncoupling proteins." *Genome Biology* 3

- Liu, S.Q., Roberts, D., Kharitonov, A., Zhang, B., Hanson, S.M., Li, Y.C., Zhang, L.-Q. and Wu, Y.H. (2013). "Endocrine Protection of Ischemic Myocardium by FGF21 from the Liver and Adipose Tissue." *Scientific Reports* 3, 2767.
- Lusis, A.J. (2010). "Atherosclerosis Aldons." *Nature* 407, 233–241.
- Ma, S., Ma, L., Yang, D., Luo, Z., Hao, X., Liu, D. and Zhu, Z. (2010). "Uncoupling Protein 2 Ablation Exacerbates High-Salt Intake-Induced Vascular Dysfunction." *American Journal of Hypertension* 23, 822–828.
- Marin-Garcia, J., Ananthakrishnan, R. and Goldenthal, M.J. (2000). "Heart Mitochondrial DNA and Enzyme Changes During Early Human Development." *Molecular and Cellular Biochemistry* 210, 47–52.
- McLeod, C.J., Aziz, A., Hoyt, R.F., McCoy, J.P. and Sack, M.N. (2005). "Uncoupling proteins 2 and 3 Function in Concert to Augment Tolerance to Cardiac Ischemia." *Journal of Biological Chemistry* 280, 33470–33476.
- Messerli, F.H., Rimoldi, S.F. and Bangalore, S. (2017). "The Transition From Hypertension to Heart Failure: Contemporary Update." *JACC: Heart Failure* 5, 543–551.
- Morin, D., Assaly, R., Paradis, S. and Berdeaux, A. (2009). "Inhibition of Mitochondrial Membrane Permeability as a Putative Pharmacological Target for Cardioprotection." *Current Medicinal Chemistry* 16, 4382–4398.
- Mullur, R., Liu, Y.-Y. and Brent, G.A. (2014). "Thyroid Hormone Regulation of Metabolism." *Physiological Reviews* 94, 355–382.
- Murphy, M.P. (2009). "How Mitochondria Produce Reactive Oxygen Species." *Biochemical Journal* 417, 1–13.
- Murray, J.V.J. and Pfeffer, M. (2016). "Heart Failure." *International Encyclopedia of Public Health* 365, 520–526.
- Murray, A.J., Panagia, M., Hauton, D., Gibbons, G.F. and Clarke, K. (2005). "Plasma Free Fatty Acids and Peroxisome Proliferator–Activated Receptor α in the Control of Myocardial Uncoupling Protein Levels." *Diabetes* 54, 3496–3502.
- Murray, A.J., Cole, M.A., Lygate, C.A., Carr, C.A., Stuckey, D.J., Little, S.E., Neubauer, S. and Clarke, K. (2008). "Increased mitochondrial uncoupling proteins, respiratory uncoupling and decreased efficiency in the chronically infarcted rat heart." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 44, 694–700.
- Murry, C.E., Jennings, R.B. and Reimer, K.A. (1986). "Preconditioning with Ischemia: a Delay of Lethal Cell Injury in Ischemic Myocardium." *Circulation* 74, 1124–1136.

Nabben, M., van Bree, B.W.J., Lenaers, E., Hoeks, J., Hesselink, M.K.C., Schaart, G., Gijbels, M.J.J., Glatz, J.F.C., da Silva, G.J.J., de Windt, L.J., Tian, R., Mike, E., Skapura, D.G., Wehrens, X.H.T. and Schrauwen, P. (2014). "Lack of UCP3 does not Affect Skeletal Muscle Mitochondrial Function uUnder Lipid-Challenged Conditions, but Leads to Sudden Cardiac Death." *Basic Research in Cardiology* 109, 447.

Nègre-Salvayre, A., Hirtz, C., Carrera, G., Cazenave, R., Troly, M., Salvayre, R., Pénicaud, L. and Casteilla, L. (1997). "A Role for Uncoupling Protein-2 as a Regulator of Mitochondrial Hydrogen Peroxide Generation." *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 11, 809–815.

*Nicholls, D.G. (2002). "Mitochondrial Function and Dysfunction in The Cell: Its Relevance to Aging and Aging-related Disease." *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 34, 1372–1381.

Nicholls, D.G. and Locke, R.M. (1984). "Thermogenic Mechanisms in Brown Fat." 64, 1-64

Nicholls, D.G. and Rial, E. (1999). "A History of the First Uncoupling Protein, UCP1." *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 31, 399–406.

Nübel, T. and Ricquier, D. (2006). "Respiration under Control of Uncoupling Proteins: Clinical Perspective." *Hormone Research in Paediatrics* 65, 300–310.

Olejnik, A., Franczak, A., Krzywonos-Zawadzka, A., Kałużna-Oleksy, M. and Bil-Lula, I. (2018). "The Biological Role of Klotho Protein in the Development of Cardiovascular Diseases." *BioMed Research International* 2018, 17.

Ormazabal, V., Nair, S., Elfeky, O., Aguayo, C., Salomon, C. and Zuñiga, F.A. (2018). "Association Between Insulin Resistance and the Development of Cardiovascular Disease." *Cardiovascular Diabetology* 17, 1–14.

Ortiga-Carvalho, T.M., Sidhaye, A.R. and Wondisford, F.E. (2014). "Thyroid Hormone Receptors and Resistance to Thyroid Hormone Disorders." *Nature Reviews Endocrinology* 10, 582–591.

*Osellame, L.D., Blacker, T.S. and Duchen, M.R. (2012). "Cellular and Molecular Mechanisms of Mitochondrial Function." *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism* 26, 711–723.

Paolisso, G., Gambardella, A., Galzerano, D., D'Amore, A., Rubino, P., Verza, M., Teasuro, P., Varricchio, M. and D'Onofrio, F. (1994). "Total-Body and Myocardial Substrate Oxidation in Congestive Heart Failure." *Congestive Heart Failure* 43, 174–179.

Papaliagkas, V., Anogianaki, A., Anogianakis, G. and Ilonidis, G. (2007). "The Proteins and the Mechanisms of Apoptosis: A Mini-review of the Fundamentals." *Hippokratia* 11, 108–113.

Pfanner, N. and Meijer, M. (1997). "Mitochondrial Biogenesis: The Tom and Tim Machine." *Current Biology* 7, 100–103.

Pfanner, N., Craig, E.A. and Meijer, M. (1994). "The Protein Import Machine of the Mitochondrial Inner Membrane." *Trends in Biochemical Sciences* 19, 368–372.

Planavila, A., Redondo, I., Hondares, E., Vinciguerra, M., Munts, C., Iglesias, R., Gabrielli, L.A., Sitges, M., Giralt, M., van Bilsen, M. and Villarroya, F. (2013). "Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice." *Nature Communications* 4, 2019.

Planavila, A., Redondo-Angulo, I. and Villarroya, F. (2015a). "FGF21 and Cardiac Physiopathology." *Frontiers in Endocrinology* 6, 133.

Planavila, A., Redondo-Angulo, I., Ribas, F., Garrabou, G., Casademont, J., Giralt, M. and Villarroya, F. (2015b). "Fibroblast Growth Factor 21 Protects the Heart from Oxidative Stress." *Cardiovascular Research* 106, 19–31.

Pohl, E.E., Rupprecht, A., Macher, G. and Hilse, K.E. (2019). "Important Trends in UCP3 Investigation." *Frontiers in Physiology* 10, 470.

Puigserver, P., Wu, Z., Park, C.W., Graves, R., Wright, M. and Spiegelman, B.M. (1998). "A Cold-inducible Coactivator of Nuclear Receptors Linked to Adaptive Thermogenesis." *Cell* 92, 829–839.

Ramsden, D.B., Ho, P.W.-L., Ho, J.W.-M., Liu, H.-F., So, D.H.-F., Tse, H.-M., Chan, K.-H. and Ho, S.-L. (2012). "Human Neuronal Uncoupling Proteins 4 and 5 (UCP4 and UCP5): Structural Properties, Regulation, and Physiological Role in Protection Against Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction." *Brain and Behavior* 2, 468–478.

Reed, J.C. (2000). "Mechanisms of Apoptosis." *The American Journal of Pathology* 157, 1415–1430.

Ricquier, D. and Bouillaud, F. (2000). "Mitochondrial uncoupling proteins: From mitochondria to the regulation of energy balance." *Journal of Physiology* 529, 3–10.

*Rieusset, J. (2018). "The Role of Endoplasmic Reticulum-mitochondria Contact Sites in the Control of Glucose Homeostasis: An Update." *Cell Death and Disease* 9.

Rousset, S., Alves-Guerra, M.C., Mozo, J., Miroux, B., Cassard-Doulcier, A.M., Bouillaud, F. and Ricquier, D. (2004). "The Biology of Mitochondrial Uncoupling Proteins." *Diabetes* 53, 130–135.

Ryu, J.-W., Hong, K.H., Maeng, J.H., Kim, J.-B., Ko, J., Park, J.Y., Lee, K.-U., Hong, M.K., Park, S.W., Kim, Y.H. and Han, K.H. (2004). "Overexpression of Uncoupling Protein 2 in THP1 Monocytes Inhibits beta2 Integrin-mediated Firm Adhesion and Transendothelial Migration." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 24, 864–870.

Sabatine, M.S., Morrow, D.A., de Lemos, J.A., Omland, T., Desai, M.Y., Tanasijevic, M., Hall, C., McCabe, C.H. and Braunwald, E. (2004). "Acute Changes in Circulating Natriuretic Peptide Levels in Relation to Myocardial Ischemia." *Journal of the American College of Cardiology* 44, 1988–1995.

Sacks, H.S., Fain, J.N., Holman, B., Cheema, P., Chary, A., Parks, F., Karas, J., Optican, R., Bahouth, S.W., Garrett, E., Wolf, R.Y., Carter, R.A., Robbins, T., Wolford, D. and Samaha, J. (2009). "Uncoupling protein-1 and Related Messenger Ribonucleic Acids in Human Epicardial and Other Adipose Tissues: Epicardial Fat Functioning as Brown Fat." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 94, 3611–3615.

Salvatore, D., Bartha, T., Harney, J.W. and Larsen, P.R. (1996). "Molecular Biological and Biochemical Characterization of the Human Type 2 Selenodeiodinase." *Endocrinology* 137, 3308–3315.

Scheuermann-Freestone, M., Madsen, P.L., Manners, D., Blamire, A.M., Buckingham, R.E., Styles, P., Radda, G.K., Neubauer, S. and Clarke, K. (2003). "Abnormal Cardiac and Skeletal Muscle Energy Metabolism in Patients with Type 2 Diabetes." *Circulation* 107, 3040–3046.

Seki, N., Moczko, M., Nagase, T., Zufall, N., Ehmann, B., Dietmeier, K., Schäfer, E., Nomura, N. and Pfanner, N. (1995). "A Human Homolog of the Mitochondrial Protein Import Receptor Mom19 Can Assemble with the Yeast Mitochondrial Receptor Complex." *FEBS Letters* 375, 307–310.

*Sharma, S., Jackson, P.G. and Makan, J. (2004). "Cardiac Troponins." *Journal of Clinical Pathology* 57, 1025–1026.

Short, K.R., Nygren, J., Barazzoni, R., James Levine, A. and Nair, K.S. (2001). "T3 Increases Mitochondrial ATP Production in Oxidative Muscle Despite Increased Expression of UCP2 and -3." *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* 280, 43–45.

Silva, J.E. (1988). "Full Expression of Uncoupling Protein Gene Requires the Concurrence of Norepinephrine and Triiodothyronine." *Molecular Endocrinology* 2, 706–713.

Skulachev, V.P. (1991). "Fatty Acid Circuit as a Physiological Mechanism of Uncoupling of Oxidative Phosphorylation." *FEBS Letters* 294, 158–162.

Smorodchenko, A., Rupprecht, A., Sarilova, I., Ninnemann, O., Bräuer, A.U., Franke, K., Schumacher, S., Techritz, S., Nitsch, R., Schuelke, M. and Pohl, E.E. (2009). "Comparative Analysis of Uncoupling Protein 4 Distribution in Various Tissues Under Physiological Conditions and During Development." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1788, 2309–2319.

Song, J.W., Kim, H.J., Lee, H., Kim, J.W. and Kwak, Y.L. (2016). "Protective Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α Activation Against Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury is Related to Upregulation of Uncoupling Protein-3." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016:3539649.

Stanford, K.I., Middelbeek, R.J.W., Townsend, K.L., An, D., Nygaard, E.B., Hitchcox, K.M., Markan, K.R., Nakano, K., Hirshman, M.F., Tseng, Y.-H. and Goodyear, L.J. (2013). "Brown Adipose Tissue Regulates Glucose Homeostasis and Insulin Sensitivity." *The Journal of Clinical Investigation* 123, 215–223.

****Stansfield, W.E., Ranek, M., Pendse, A., Schisler, J.C., Wang, S., Pulinilkunnil, T. and Willis, M.S. (2014). "The Pathophysiology of Cardiac Hypertrophy and Heart Failure." Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease, pp. 51–78.**

Teshima, Y., Akao, M., Jones, S.P. and Marbán, E. (2003). "Uncoupling Protein-2 Overexpression Inhibits Mitochondrial Death Pathway in Cardiomyocytes." *Circulation Research* 93, 192–200.

Thomas, J.A. and Marks, B.H. (1978). "Plasma Norepinephrine in Congestive Heart Failure." *The American Journal of Cardiology* 41, 233–243.

Thoonen, R., Ernande, L., Cheng, J., Nagasaka, Y., Yao, V., Miranda-Bezerra, A., Chen, C., Chao, W., Panagia, M., Sosnovik, D.E., Puppala, D., Armoundas, A.A., Hindle, A., Bloch, K.D., Buys, E.S. and Scherrer-Crosbie, M. (2015). "Functional Brown Adipose Tissue Limits Cardiomyocyte Injury and Adverse Remodeling in Catecholamine-Induced Cardiomyopathy." *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 84, 202–211.

*Tilokani, L., Nagashima, S., Paupe, V., and Prudent, J. (2018). Mitochondrial Dynamics: Overview of Molecular Mechanisms. *Essays in Biochemistry* 62, 341–360.

Turer, A.T. and Scherer, P.E. (2012). "Adiponectin: Mechanistic Insights and Clinical Implications." *Diabetologia* 55, 2319–2326.

Turner, J.D., Gaspers, L.D., Wang, G. and Thomas, A.P. (2010). "Uncoupling Protein-2 Modulates Myocardial Excitation-Contraction Coupling." *106*, 730–738.

*Ventura-Clapier, R., Garnier, A., Veksler, V. and Joubert, F. (2011). "Bioenergetics of the Failing Heart." *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* 1813, 1360–1372.

*Vidal-Puig, A.J., Grujic, D., Zhang, C.Y., Hagen, T., Boss, O., Ido, Y., Szczepanik, A., Wade, J., Mootha, V., Cortright, R., Muoio, D.M. and Lowell, B.B. (2000). "Energy Metabolism in Uncoupling Protein 3 Gene Knockout Mice." *Journal of Biological Chemistry* 275, 16258–16266.

Wachter, S.B. and Gilbert, E.M. (2012). "Beta-Adrenergic Receptors, from Their Discovery and Characterization through Their Manipulation to Beneficial Clinical Application." *Cardiology* 122, 104–112.

Whittle, A.J., López, M. and Vidal-Puig, A. (2011). "Using Brown Adipose Tissue to Treat Obesity - the Central Issue." *Trends in Molecular Medicine* 17, 405–411.

Williams, L.T., Lefkowitz, R.J., Watanabe, A.M., Hathaway, D.R. and Besch, H.R. (1977). "Thyroid Hormone Regulation of p-Adrenergic Receptor Number." *The Journal of Biological Chemistry* 252, 2787–2789.

Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., Troy, A., Cinti, S., Lowell, B., Scarpulla, R.C. and Spiegelman, B.M. (1999). "Mechanisms Controlling Mitochondrial Biogenesis and Respiration Through the Thermogenic Coactivator PGC-1." *Cell* 98, 115–124.

Yang, E., Zha, J., Jockel, J., Boise, L.H., Thompson, C.B. and Korsmeyer, S.J. (1995). "Bad, a Heterodimeric Partner for Bcl-x, and Bcl-2, Displaces Bax and Promotes Cell Death." *Cell* 80, 285–291.

Yang, X., Pratley, R.E., Tokraks, S., Antonio Tataranni, P. and Permana, P.A. (2002). "UCP5/BMCP1 Transcript Isoforms in Human Skeletal Muscle: Relationship of the Short-Insert Isoform with Lipid Oxidation and Resting Metabolic Rates." *Molecular Genetics and Metabolism* 75, 369–373.

Young, J.B., Saville, E., Rothwell, N.J., Stock, M.J. and Landsberg, L. (1982). "Effect of Diet and Cold Exposure On Norepinephrine Turnover in Brown Adipose Tissue of the Rat." *The Journal of Clinical Investigation* 69, 1061–1071.

Young, M.E., Patil, S., Ying, J., Depre, C., Ahuja, H.S., Shipley, G.L., Stepkowski, S.M., Davies, P.J.A. and Taegtmeyer, H. (2001). "Uncoupling Protein 3 Transcription is Regulated by Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α in the Adult Rodent Heart." *The FASEB Journal* 15, 833–845.

Yu, X.X., Mao, W., Zhong, A., Schow, P., Brush, J., Sherwood, S.W., Adams, S.H. and Pan, G. (2000). "Characterization of Novel UCP5/BMCP1 Isoforms and Differential Regulation of UCP4 and UCP5 Expression Through Dietary or Temperature Manipulation." *The FASEB Journal* 14, 1611–1618.

Zamah, A.M., Delahunty, M., Luttrell, L.M. and Lefkowitz, R.J. (2002). "Protein Kinase A-Mediated Phosphorylation of the Beta 2-Adrenergic Receptor Regulates its Coupling to Gs and Gi. Demonstration in a Reconstituted System." *The Journal of Biological Chemistry* 277, 31249–31256.

Sekundární citace jsou označené hvězdičkou (*). Citace kapitoly z knihy jsou označené dvěma hvězdičkami (**).